

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2000-081410

(43)Date of publication of application : 21.03.2000

(51)Int.Cl. G01N 27/327
G01N 27/26
G01N 27/27

(21)Application number : 11-186577

(71)Applicant : NEC CORP

(22)Date of filing : 30.06.1999

(72)Inventor : MATSUMOTO TATSU

(30)Priority

Priority number : 10187529

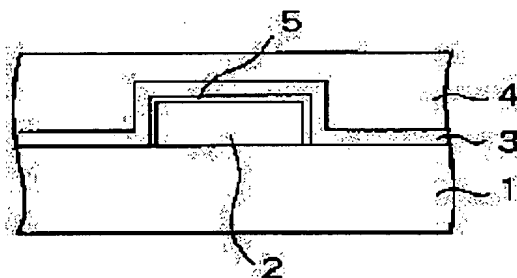
Priority date : 02.07.1998

Priority country : JP

(54) OXYGEN ELECTRODE, BIOSENSOR USING IT, AND MEASUREMENT APPARATUS**(57)Abstract:**

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide stable output reproducibility when a humor sample such as a sample including high concentration urea compound, particularly, by providing an electrode protection layer principally consisting of a urea compound and covering a part of an electrode.

SOLUTION: An oxygen electrode for a biosensor measuring glucose and the like in urine is provided with an electrode 2 functioning an active electrode on an insulated base board 1, for example. The upper face of the electrode 2 is covered by means of an electrode protection layer 5 mainly consisting of a urea compound such as urea or thiourea. A binding layer 3 principally consisting of γ -aminopropyltriethoxy silane is formed on the electrode protective layer 5, the electrode 2 and the insulated base board 1, and on the binding layer 3, an immobilized enzyme layer 4 using an organic polymer as a base material is formed. The electrode protection layer 5 is formed by immersing a base board 1, in which the electrode 2 is formed, into a solution including 0.1-2 mM of sodium chloride and electrically energizing it. In this way, adhesion of a contaminant onto an electrode and influence of an interfering material can be restricted.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

30.06.1999

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3214563

[Date of registration] 27.07.2001

[Number of appeal against examiner's decision
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-81410 ✓

(P2000-81410A)

(43) 公開日 平成12年3月21日 (2000.3.21)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テームコード* (参考)
G 0 1 N 27/327		G 0 1 N 27/30	3 5 3 B
27/26	3 7 1	27/26	3 7 1 D
27/27		27/30	3 5 3 J
			3 5 3 Z
		27/46	B
審査請求 有 請求項の数34 O L (全 22 頁)			

(21) 出願番号 特願平11-186577

(22) 出願日 平成11年6月30日 (1999.6.30)

(31) 優先権主張番号 特願平10-187529

(32) 優先日 平成10年7月2日 (1998.7.2)

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

(71) 出願人 000004237

日本電気株式会社

東京都港区芝五丁目7番1号

(72) 発明者 松本 達

東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内

(74) 代理人 100070219

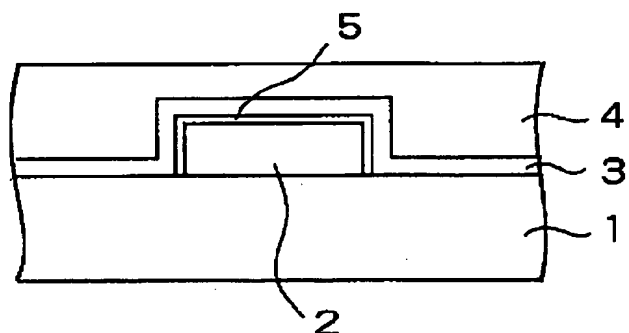
弁理士 若林 忠 (外3名)

(54) 【発明の名称】 酵素電極およびそれを用いたバイオセンサ、測定器

(57) 【要約】

【課題】 尿素等の汚染物質の影響を排除し、安定した出力再現性を示す酵素電極等を提供する。

【解決手段】 絶縁基板1上に電極2を設け、この電極2の少なくとも一部を被覆するように尿素化合物からなる電極保護層5を形成する。この上に、結合層3を介して固定化酵素層4を形成する。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】 絶縁基板上に設けられた電極と、尿素化合物を含み前記電極の少なくとも一部を被覆する電極保護層と、前記電極および前記電極保護層を覆うように形成された固定化酵素層とを有することを特徴とする酵素電極。

【請求項 2】 前記尿素化合物が、尿素またはチオ尿素であることを特徴とする請求項 1 に記載の酵素電極。

【請求項 3】 前記電極は白金電極であることを特徴とする請求項 1 または 2 に記載の酵素電極。

【請求項 4】 前記電極保護層は、支持電解質と尿素化合物を含む混合溶液中に前記電極を備えた前記絶縁基板を浸漬し通電することにより形成された層であることを特徴とする請求項 1 乃至 3 いずれかに記載の酵素電極。

【請求項 5】 前記混合溶液は、0.1 mM～6.7 M の尿素を含み、0.1 mM～2 M の塩化ナトリウムを含むことを特徴とする請求項 4 に記載の酵素電極。

【請求項 6】 前記電極保護層と前記固定化酵素層との間に、シランカップリング剤から主としてなる結合層を有することを特徴とする請求項 1 乃至 5 いずれかに記載の酵素電極。

【請求項 7】 前記シランカップリング剤は、γ-アミノプロピルトリエトキシシランであることを特徴とする請求項 6 に記載の酵素電極。

【請求項 8】 前記電極保護層と前記固定化酵素層との間に、パーフルオロカーボン骨格を有するイオン交換樹脂から主としてなるイオン交換樹脂層を有することを特徴とする請求項 1 乃至 7 いずれかに記載の酵素電極。

【請求項 9】 前記固定化酵素層の上に、フッ素を含まないビニル系重合体に対し、少なくともフルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基が結合したポリマーから主としてなる制限透過層を有することを特徴とする請求項 1 乃至 8 いずれかに記載の酵素電極。

【請求項 10】 前記ポリマーが、ポリカルボン酸のフルオロアルコールエステルであることを特徴とする請求項 9 いずれかに記載の酵素電極。

【請求項 11】 請求項 1 乃至 10 いずれかに記載の酵素電極を作用極として用いたことを特徴とするバイオセンサ。

【請求項 12】 前記絶縁基板上に、さらに対極と参照極とを備えたことを特徴とする請求項 11 に記載のバイオセンサ。

【請求項 13】 前記酵素電極および前記対極が白金電極であり、前記参照極が銀／塩化銀電極であることを特徴とする請求項 12 に記載のバイオセンサ。

【請求項 14】 尿中のグルコースの測定に使用されることを特徴とする請求項 11 乃至 13 いずれかに記載のバイオセンサ。

【請求項 15】 請求項 11 乃至 14 いずれかに記載のバイオセンサと、該バイオセンサから得られた電気信号

を報知するデータ報知部とを有してなることを特徴とする測定器。

【請求項 16】 請求項 11 乃至 14 いずれかに記載のバイオセンサと、該バイオセンサから電気信号を得る電気化学測定回路部と、該電気信号をもとに測定値を算出するデータ処理部と、該測定値を報知するデータ報知部とを有してなることを特徴とする測定器。

【請求項 17】 前記データ処理部は、(a) 計時手段、(b) 測定時刻を設定する時刻設定手段および該時刻設定手段で設定した時刻になったことを報知する時刻報知手段、(c) 測定器の操作方法を説明する操作説明手段、(d) 算出した測定値を記憶する測定値記憶手段、(e) 測定器の使用者の暗証番号を登録する暗証番号登録手段、(f) メモを登録するメモ登録手段、(g) 測定器の誤作動を検出する動作報知手段、(h) 前記酵素電極の校正時期を検出し報知する校正時期報知手段、(i) 前記酵素電極の交換時期を検出し報知する電極交換時期報知手段、(j) 異常電流値を検出し報知する異常電流値報知手段、および (k) 前記酵素電極の校正を行う電極校正手段のうち、一部または全部を含むことを特徴とする請求項 16 に記載の測定器。

【請求項 18】 前記データ報知部は、前記データ処理部により算出された測定値のほか、さらに、(a)～(k) のうち一または二以上の手段により得られた処理結果を報知することを特徴とする請求項 17 に記載の測定器。

【請求項 19】 前記時刻設定手段で設定できる時刻が複数であることを特徴とする請求項 17 または 18 に記載の測定器。

【請求項 20】 前記暗証番号登録手段は複数の暗証番号を登録できることを特徴とする請求項 17 乃至 19 いずれかに記載の測定器。

【請求項 21】 前記測定値記憶手段は複数の測定値を記憶できることを特徴とする請求項 17 乃至 20 いずれかに記載の測定器。

【請求項 22】 前記メモ登録手段は、予め登録したメモ群を呼び出すメモ項目手段と、呼び出したメモ群から登録したいメモ項目を選択するメモ選択手段と、メモ選択手段で選択したメモを呼び出すメモ呼び出し手段とを備え、登録できるメモが複数であることを特徴とする請求項 17 乃至 21 いずれかに記載の測定器。

【請求項 23】 温度センサをさらに有し、該温度センサで測定された、測定試料または測定環境の温度を用いて、前記測定値が補正されることを特徴とする請求項 17 乃至 22 いずれかに記載の測定器。

【請求項 24】 pH センサをさらに有し、該 pH センサで測定された測定試料の pH 値を用いて前記測定値が補正されることを特徴とする請求項 17 乃至 23 いずれかに記載の測定器。

【請求項 25】 前記データ処理部に接続された通信処

理部をさらに有し、該通信処理部により、前記データ処理部で得られたデータが、測定器の外部に転送されることを特徴とする請求項 17 乃至 24 いずれかに記載の測定器。

【請求項 26】 前記データ処理部に接続された印刷部をさらに有し、該印刷部により、前記データ処理部で得られたデータが印刷されることを特徴とする請求項 17 乃至 25 いずれかに記載の測定器。

【請求項 27】 前記データ処理部に接続された外部記憶部をさらに有し、該外部記憶部により、前記データ処理部で得られたデータが保存されることを特徴とする請求項 17 乃至 26 いずれかに記載の測定器。

【請求項 28】 前記外部記憶部は、脱着可能な記憶媒体を利用するものであることを特徴とする請求項 27 に記載の測定器。

【請求項 29】 前記記憶媒体が、半導体記憶媒体、磁気記憶媒体、または光学的記憶媒体であることを特徴とする請求項 28 に記載の測定器。

【請求項 30】 前記データ報知部の報知方法が、デジタル数値、アナログ数値、図形、音声、音、振動、熱、または光であることを特徴とする請求項 15 乃至 29 いずれかに記載の測定器。

【請求項 31】 前記バイオセンサが着脱自在に設けられたことを特徴とする請求項 15 乃至 30 いずれかに記載の測定器。

【請求項 32】 絶縁基板の表面に電極を形成する工程と、該工程の後、該絶縁基板を支持電解質と尿素化合物を含む混合溶液中に浸漬した状態で通電し、前記電極の少なくとも一部を尿素化合物を含む電極保護層で被覆する工程とを含むことを特徴とする酵素電極の製造方法。

【請求項 33】 前記支持電解質が塩化ナトリウムであることを特徴とする請求項 32 に記載の酵素電極の製造方法。

【請求項 34】 前記混合溶液は、0.1 mM～6.7 M の尿素を含み、0.1 mM～2 M の塩化ナトリウムを含むことを特徴とする請求項 33 に記載の酵素電極の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、溶液中の特定の化学物質を、酵素反応を用いて電気化学的に測定する酵素電極に関する。

【0002】

【従来の技術】 生体試料等に含まれる各種成分の測定方法として、酵素反応と電気化学反応を組み合わせた測定方法が広く用いられている。たとえば、溶液中の化学物質を酵素の触媒機能により過酸化水素に変換し、この過酸化水素を酸化還元反応により計測するバイオセンサが汎用化している。たとえばグルコースバイオセンサは、グルコースをグルコースオキシターゼ（G O X）によ

て酸化し、グルコノラクトンと過酸化水素とする。発生する過酸化水素はグルコース濃度に比例することから、この過酸化水素の発生量を測定することによって試料中のグルコース量を定量する。

【0003】 この種のセンサにおいては、干渉物質および汚染物質の影響を排除することが重要である。干渉物質とは、上述の酸化還元反応系に影響を与え測定結果に正誤差を生じさせる化学物質であり、アスコルビン酸やアセトアミノフェン等がある。一方、汚染物質とは、電極表面に吸着して測定結果に負誤差を生じる化学物質である。たとえば、1992 年、バイオインダストリー V O L . 9、N O . 12、20～25 頁に、アルブミンや尿素、尿素化合物、クレアチニンがセンサ出力に汚染物質（負誤差を与える物質）として記載されている。

【0004】 高濃度の干渉物質のセンサ出力への悪影響を排除する酵素電極として、ポリアルキルシロキサンとナフィオン、アセチルセルロースの制限透過層を積層した構成のものが特開平 8-180286 号公報に開示されている。図 11 にその構成を示す。絶縁基板 11 上に電極 12 が形成され、その上に γ-アミノプロピルトリエトキシシラン膜 13、アセチルセルロース膜 14、パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂膜 15、固定化酵素層 16、およびポリアルキルシロキサン膜 17 がこの順で積層されている。このような積層構造により、高濃度で存在する干渉物質が電極表面へ到達することを防止できるとされている。

【0005】 また、干渉物質および汚染物質のセンサ出力への悪影響を排除する酵素電極として、ナフィオンとポリウレタンの制限透過層を用いたものが特開平 3-72254 号公報に開示されている。図 12 にその構成を示す。プラスチックフィルム 22 上に作用極 23、対照電極 24、絶縁性保護膜 25 が形成され、これらを被覆するように固定化酵素膜 29 が形成されている。固定化酵素膜 29 は、ナフィオン膜 29 a、酵素層 29 b、ポリウレタン層 29 c からなっている。このような構造の電極を用いることにより、干渉物質および汚染物質の電極への透過や付着を軽減できるとされている。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】 しかしながら上記従来技術に係る酵素電極を用いた場合、尿素化合物等の汚染物質を高濃度含有する尿や血液などの体液を測定する際に、かかる汚染物質の透過を排除することが困難であった。たとえばアセチルセルロース膜は、分子量の大きな物質の透過を制限するものの尿素のような分子量の小さな物質の透過を十分に制限することは困難である。

【0007】 このため、尿素化合物等の汚染物質が一部、電極表面に到達して不可逆的に吸着し、使用により経時的にセンサ出力が低下するという問題があり、繰り返し測定時の再現性や長期の安定性に欠けていた。また、一度電極に吸着した尿素化合物は、水洗などでは容

易に除去できず、次の測定が可能になるまでの時間が長くなったり、特に繰り返して測定した場合に測定回数に依存して負誤差の影響が大きくなる問題があった。

【0008】このような尿素化合物等の汚染物質の付着の問題は、特に電極材料として白金を用いた場合に顕著となる。尿素化合物は白金に対して付着しやすいからである。ところが電極材料として、通常、耐薬品性および過酸化水素の検出特性に優れた白金が用いられており、上記問題を解決する酵素電極の開発が強く望まれている。

【0009】本発明は上記課題を解決するためになされたものであり、特に高濃度の尿素化合物を含む尿や血液、汗等の体液のサンプルを測定した際、汚染物質の電極面への透過を排除し、かつ干渉物質の影響も排除し、センサ出力の低下を防止して安定した出力再現性を示す酵素電極を提供することを目的とする。

【0010】

【課題を解決するための手段】本発明によれば、絶縁基板上に設けられた電極と、尿素化合物を主成分とし前記電極の少なくとも一部を被覆する電極保護層と、前記電極および前記電極保護層を覆うように形成された固定化酵素層とを有することを特徴とする酵素電極が提供される。

【0011】すなわち本発明の酵素電極は、絶縁基板上に設けられた電極（電極層）と、この電極上に設けられた種々の機能を有する複数の層からなっている。

【0012】本発明の酵素電極は、バイオセンサ、特に尿や血液、汗といった体液等を被測定試料としグルコース等を検出するバイオセンサの検出部として使用される。

【0013】本発明の酵素電極は、絶縁基板上に設けられた電極の表面に尿素化合物を含む電極保護層が設けられている。尿素化合物は、前述したとおり電極表面に付着して測定結果に負誤差を与える汚染物質である。本発明の酵素電極は、このような汚染物質を含む電極保護層をあらかじめ電極表面に設けておくことで、測定の際、測定試料中に含まれる汚染物質が電極表面へ到達することを制限し、感度の変動を防止するものである。

【0014】尿素化合物を含む電極保護層を設けることにより、感度の絶対値は低下するものの、その低下幅は実用上問題となる程度のものではない。一方、使用による感度の経時変化については、電極保護層を設けない従来の構成の酵素電極と比較して顕著に改善される。

【0015】さらに、電極保護層は、干渉物質であるアスコルビン酸やアセトアミノフェン等の透過を制限する機能を有する。これらの物質に対する透過の制限に比し、過酸化水素に対する透過の制限の程度は小さい。このため、過酸化水素の選択透過性を高めることができる。

【0016】本発明の酵素電極は、以上述べた作用を有

する電極保護層を有するため、尿素化合物によるセンサ出力の経時低下、および干渉物質によるセンサ出力の増加が抑制され、安定した出力が得られる。また、従来よりも高感度のセンサが得られる。

【0017】電極保護層は尿素化合物を含む。その含有率は特に制限がないが、実質的に尿素化合物から主としてなることが好ましい。「主としてなる」とは、たとえば、電極保護層に対する尿素化合物の含有率が50重量%以上であることをいう。

10 【0018】電極保護層は、表面の全体を被覆するように形成されることが好ましいが、電極表面の一部を被覆するものであってもよい。また電極保護層の厚みは特に制限がないが、実施例等において後述するように電解形成法により形成された尿素からなる電極保護層により十分な効果が認められることから、数分子が積層された程度、たとえば0.1～50nm程度の平均厚みがあれば充分である。

20 【0019】本発明の酵素電極において、電極保護層と固定化酵素層と固定化酵素層とは、直接、接するように形成されていてもよいし、これらの間に他の層が介在してもよい。たとえば、電極保護層と固定化酵素層の間にシランカップリング剤から主としてなる結合層を有する構成としたり、電極保護層と固定化酵素層の間にパーフルオロカーボン骨格を有するイオン交換樹脂から主としてなるイオン交換樹脂層を有する構成とすることもできる。なお、本発明における、絶縁基板上に設けられた電極とは、少なくとも作用極として機能する電極をいう。

30 【0020】また本発明によれば、上記の酵素電極を作用極として用いたバイオセンサが提供される。このバイオセンサは、尿素化合物を含み電極の少なくとも一部を被覆する電極保護層を有する酵素電極を具備するため、尿素化合物によるセンサ出力の経時低下、および干渉物質によるセンサ出力の増加が抑制され、安定した出力が得られる。また、従来よりも高い感度を実現することができる。本発明のバイオセンサは、絶縁基板上に、さらに対極と参照極とを備えた構成とすることもできる。このとき、酵素電極（作用極）および対極を白金電極とし、参照極を銀／塩化銀電極とすることが好ましい。尿素は白金に付着しやすいため、酵素電極（作用極）や対極に尿素化合物を含む電極保護層を好適に形成できるからである。

50 【0021】さらに本発明によれば、上記バイオセンサを用いた種々の測定器が提供される。すなわち、本発明によれば、上記バイオセンサと、該バイオセンサから得られた電気信号を報知するデータ報知部とを有してなることを特徴とする測定器が提供される。また、上記バイオセンサと、該バイオセンサから電気信号を得る電気化学測定回路部と、該電気信号をもとに測定値を算出するデータ処理部と、該測定値を報知するデータ報知部とを有してなることを特徴とする測定器が提供される。

【0022】これらの測定器は、特定構造の作用極を具備するバイオセンサを有しているため、尿素化合物や干渉物質による測定値の変動を防止し、高感度の測定を安定的に行うことができる。

【0023】また本発明によれば、絶縁基板の表面に電極を形成する工程と、該工程の後、該絶縁基板を支持電解質と尿素化合物を含む混合溶液中に浸漬した状態で通電し、前記電極の少なくとも一部を、尿素化合物を含む電極保護層で被覆する工程とを含むことを特徴とする酵素電極の製造方法が提供される。

【0024】本発明の酵素電極の製造方法は電解法を用いるため、尿素化合物層を個々の電極上に選択的に形成することができる。したがって、尿素化合物層形成とパターン化を同時に達成することができる。このため製造工程が簡単であり、大量生産も容易である。さらに、電極のサイズや形状によらず上記尿素化合物層を形成することができる。

【0025】

【発明の実施の形態】本発明において、「酵素電極」とは固定化酵素層の設けられた電極をいう。「バイオセンサ」は、上記酵素電極を含む素子部分をいうものとし、必要に応じて、対極、参照極を含むものとする。また、本発明における「測定器」とは、上記バイオセンサを含むシステムをいい、バイオセンサから得られた電気信号を報知したり処理を行う種々の手段を備えたものをいう。以下、本発明に係る酵素電極、バイオセンサ、および測定器について、好ましい実施形態を説明する。

【0026】本発明のバイオセンサは、尿中のグルコース（尿糖）を測定する尿糖センサとして用いた場合、特に効果的である。

【0027】尿糖の測定下限に関し、従来技術では 50 mg/dl であったのに対し、本発明のセンサでは $1 \sim 5 \text{ mg/dl}$ まで検出可能となる。従来のバイオセンサでは S/N 比が高いため、 50 mg/dl 以下の領域の低濃度グルコースを測定するとセンサ出力がノイズに埋もれてしまい、定量的な測定が困難であった。これに対し本発明のセンサは S/N 比が低いため、低濃度領域でも高精度の測定が可能となる。健康な人の尿糖値が $2 \sim 10 \text{ mg/dl}$ であることから、上記のような測定感度の向上の意義は非常に大きい。本発明のバイオセンサによれば 50 mg/dl 以下の領域の尿糖を定量的に測定できるため、従来のセンサでは不可能であった、尿糖値が正常範囲内にある人や、糖尿病予備軍に該当する人の尿糖を測定することが可能となり、糖尿病の予防に役立つデータ収集が可能となるからである。

【0028】また本発明のセンサを用いれば、尿に大量に含まれる尿素、ビタミンC、アセトアミノフェンの影響を有効に排除できる。このため、ビタミンCを含む清涼飲料を摂取したりアセトアミノフェンを含む解熱剤等を服用した場合にも正確な測定が可能となる。

【0029】本発明の測定器は、バイオセンサが着脱自在に設けられていることが好ましい。バイオセンサの電極部は使用により消耗するため、容易に交換できる構造とすることが望ましいからである。ここで、バイオセンサの部分のみが着脱自在になっている形態のほか、バイオセンサと他の部分とを接続する配線や、バイオセンサを含む部分が着脱自在になっている形態であってもよい。たとえば図16の構成の測定器において、バイオセンサ50と電気化学測定回路部51との間の配線54が着脱自在になっていてもよく、また、バイオセンサ50、配線54、および電気化学測定回路部51からなる部分が着脱自在になっていてもよい。

【0030】本発明の測定器におけるデータ処理部は、バイオセンサから得られた電気信号をもとに測定値を算出する機能を有しており、たとえば、上記電気信号をアナログ信号および／またはデジタル信号に変換し、測定値を算出するという形態で動作する。データ処理部は種々の手段を備えた構成とすることもでき、たとえば、

(a) 計時手段、(b) 測定時刻を設定する時刻設定手段および該時刻設定手段で設定した時刻になったことを報知する時刻報知手段、(c) 測定器の操作方法を説明する操作説明手段、(d) 算出した測定値を記憶する測定値記憶手段、(e) 測定器の使用者の暗証番号を登録する暗証番号登録手段、(f) メモを登録するメモ登録手段、(g) 測定器の誤作動を検出する動作報知手段、(h) 前記酵素電極の校正時期を検出し報知する校正時期報知手段、(i) 前記酵素電極の交換時期を検出し報知する電極交換時期報知手段、(j) 異常電流値を検出し報知する異常電流値報知手段、および(k) 前記酵素電極の校正を行う電極校正手段のうち、一部または全部を含む構成とすることができる。このような構成とすることにより、操作性がさらに向上する。ここで、上記(a)～(k)のうち一または二以上の手段により得られた処理結果は、たとえば、報知部により報知されるものとする。

【0031】なお、本発明に係るバイオセンサ等は尿素化合物を含む電極保護層を有する酵素電極を具備するものであるが、さらに、センサの保存液や校正液に尿素化合物を添加してもよい。これにより、さらに測定の安定性を高めることが可能となる。

【0032】（第1の実施の形態）本発明の第1の実施の形態について図面を参照して説明する。本実施形態の酵素電極は、図1に示すように、絶縁基板1上に作用極として機能する電極2が設けられ、その上面を被覆するように尿素化合物から主としてなる電極保護層5が形成されている。電極保護層5は、電極2部分にのみ選択的に形成されている。これらの上にγ-アミノプロピルトリエトキシシランから主としてなる結合層3が形成され、さらにその上に、有機高分子を母材として酵素を固定化した、固定化酵素層4が形成されている。

【0033】絶縁基板1の材料としては、セラミックス、ガラス、石英、プラスチック等の絶縁性の高い材料から主としてなるものを用いることができる。耐水性、耐熱性、耐薬品性および電極との密着性に優れた材料であることが好ましい。

【0034】電極2の材料としては、たとえば白金、金、銀、炭素等を主成分とする材料が用いられ、このうち耐薬品性および過酸化水素の検出特性に優れた白金が好ましく用いられる。絶縁基板1上の電極2は、スパッタリング法、イオンプレーティング法、真空蒸着法、ケミカル・ペーパー・ディポジション法、電解法等により形成することができ、このうちスパッタリング法が望ましい。絶縁基板1との密着性が良好であり、かつ、白金層を容易に形成できるからである。また、絶縁基板1と電極2の密着性を改善するために、これらの間にチタン層やクロム層などを挟んでも良い。

【0035】電極2を被覆する電極保護層5は、測定試料中に含まれる尿素等の汚染物質の電極への透過を制限する。電極保護層5は尿素化合物により構成される。尿素化合物としては尿素、チオ尿素等が挙げられ、このうち毒性が低くさらにコストの安い尿素が好ましく用いられる。但し、これらに限定されるものではない。本発明の酵素電極は、汚染物質を含む電極保護層をあらかじめ電極表面に設けておくことで、使用中の汚染による感度の変動を防止するものである。したがって、このような電極保護層の作用を考慮すれば尿素化合物の種類が上記のものに限定されないことは明らかである。

【0036】電極保護層5はたとえば浸漬法、プラズマ重合法、電解法等で形成される。このうち、プロセス時間が短く、安価な装置で実施できる電解法が望ましい。すなわち、支持電解質と尿素化合物を含む混合溶液中に電極を予め形成した絶縁基板を浸漬し、通電することにより、電極保護層を形成することが好ましい。この際、混合溶液中の尿素濃度は、好ましくは0.1 mM~6.7 M、さらに好ましくは1 M~6.7 Mとする。また、混合溶液中の塩化ナトリウム濃度は、好ましくは0.1 mM~2 M、さらに好ましくは1.5 mM~150 mMとする。このようにすることによって良質な電極保護層が得られ、汚染物質の電極への付着を効果的に制限するとともに、干渉物質の透過を制限して良好な選択性を得ることができる。さらに、γ-アミノプロピルトリエトキシシランから主としてなる結合層3との密着性も向上する。

【0037】電極保護層5上に形成された結合層3は、その上の固定化酵素層4と、絶縁基板1および電極保護層5との密着性（結合力）を向上させる。また、絶縁基板1の表面のぬれ性を改善し、酵素を固定化した固定化酵素層4を形成する際の膜厚の均一性を向上させる効果もある。さらには、電極2での過酸化水素の反応に干渉するアスコルビン酸、尿酸およびアセトアミノフェンに

対する選択透過性も有する。結合層3はシランカップリング剤を主成分とする。シランカップリング剤の種類としては、アミノシラン、ビニルシラン、エポキシシランが挙げられるが、このうち、密着性、選択透過性の観点から、アミノシランの一種であるγ-アミノプロピルトリエトキシシランが好ましく用いられる。結合層3は、例えばシランカップリング剤溶液をスピンコートすることにより形成することができる。この際、シランカップリング剤濃度は、1 v/v%（体積%）程度とすることが好ましい。選択透過性が顕著に向上するからである。

【0038】固定化酵素層4は、有機高分子を母材として、触媒機能をもつ酵素を固定化したものである。固定化酵素層4は、例えば、各種酵素、グルタルアルデヒド等のタンパク質架橋剤、およびアルブミンを含む溶液を、結合層3上に滴下し、スピンコート法にて形成される。アルブミンは、各種酵素を架橋剤の反応から保護するとともにタンパク質の基材となる。酵素としては、乳酸酸化酵素、グルコース酸化酵素、尿酸酸化酵素、ガラクトース酸化酵素、ラクトース酸化酵素、スクロース酸化酵素、エタノール酸化酵素、メタノール酸化酵素、スターチ酸化酵素、アミノ酸酸化酵素、モノアミン酸化酵素、コレステロール酸化酵素、コリン酸化酵素およびビルビン酸化酵素等、触媒反応の生成物として過酸化水素を生成する、または酸素を消費する酵素が挙げられる。

【0039】ここで、2種類以上の酵素を同時に用いて過酸化水素を生成させてもよい。例えば、クレアチナーゼ、クレアチナーゼ、およびサルコシンオキシダーゼがこれに該当する。これらの酵素を用いることによってクレアチニンの検出が可能になる。また、酵素と補酵素を同時に用いてもよい。例えば、3-ヒドロキシ酪酸脱水素酵素とニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（NAD）がこれに該当する。これらの酵素を用いることによって3-ヒドロキシ酪酸の検出が可能になる。さらに、酵素と電子メディエータを同時に用いてもよい。この場合は、酵素によって還元された電子メディエータが電極表面上で酸化され、このときに得られる酸化電流値を測定する。例えば、グルコースオキシダーゼとフェリシアン化カリウムがこれに該当する。これらを用いることによってグルコースの検出が可能になる。

【0040】以上述べたように、固定化酵素層4は、少なくとも酵素を含み、測定対象物質を電極感応物質である過酸化水素等に変換する機能を持つ構成であれば、特に限定されない。

【0041】なお、固定化酵素層4の形成方法については、均一な膜厚を形成できる方法であれば特に制限がなく、スピンコート法以外にもスクリーン印刷法などを用いることもできる。

【0042】（第2の実施形態）次に、本発明の第2の実施の形態について図面を参照して説明する。本実施形

10

20

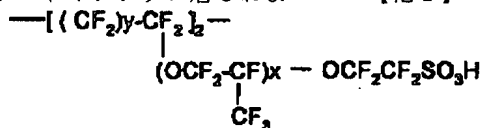
30

40

50

態の酵素電極は、図 2 に示すように、絶縁基板 1 上に作用極として機能する電極 2 が設けられ、その上面を被覆するように尿素化合物から主としてなる電極保護層 5 が形成されている。これらの上に γ-アミノプロピルトリエトキシシランから主としてなる結合層 3 が形成され、さらにその上に、パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂からなるイオン交換樹脂層 6、有機高分子を母材として酵素を固定化した固定化酵素層 4 が順次形成されている。

【0043】絶縁基板 1 上に形成する電極 2、電極保護層 5、γ-アミノプロピルトリエトキシシラン層 3 およ



ナフイオン膜等のイオン交換樹脂層 6 を固定化酵素層の上部に配置することにより、干渉物質の影響を排除することができる。このため、電極保護層 3 による干渉物質の透過抑制効果との相乗効果が得られ、干渉物質の影響

【0046】イオン交換樹脂層 6 は、純水で 50% に希釈したエタノールに溶解させて調製したナフイオンを γ-アミノプロピルトリエトキシシラン層 3 上に滴下し、スピンコート法で形成される。溶媒としては、たとえばイソプロピルアルコール、エチルアルコール等のアルコールが用いられる。滴下するナフイオンの濃度は、好ましくは 1～10w/v%、さらに好ましくは 5～7w/v% とする。このような範囲とすることにより、干渉物質の影響を排除する効果が顕著となる。

【0047】(第 3 の実施形態) 次に、本発明の第 3 の実施の形態について図面を参照して説明する。本実施形態の酵素電極は、図 3 に示すように、絶縁基板 1 上に作用極として機能する電極 2 が設けられ、その上面を被覆するように尿素化合物から主としてなる電極保護層 5 が形成されている。これらの上に γ-アミノプロピルトリエトキシシランから主としてなる結合層 3 が形成され、さらにその上に、パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂からなるイオン交換樹脂層 6、有機高分子を母材として酵素を固定化した固定化酵素層 4 が形成されている。そして最上層に制限透過層 7 が形成されている。なお、絶縁基板 1 上に形成する電極 2、電極保護層 5、γ-アミノプロピルトリエトキシシラン層からなる結合層 3、パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂からなるイオン交換樹脂層 6、および酵素を固定化した固定化酵素層 4 は、第 1 および第 2 の実施の形態と同様な方法により順次形成される。

【0048】制限透過層 7 の構成材料としては、フッ素を含まないビニル系重合体に対し、少なくともフルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基が結合した

び固定化酵素層 4 は、第 1 の実施の形態と同様な方法により順次形成される。

【0044】イオン交換樹脂層 6 を構成するパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂としては、たとえばナフイオン(商品名)を用いることができる。ナフイオンとは、陽イオン交換樹脂であり、パーフルオロメチレン主鎖に、末端スルホン酸基を有するパーフルオロポリアルキレンエーテル側鎖を結合させた構造を有している(式(1))。

【0045】
【化 1】

式(1)

ポリマーが用いられる。ここで、「フッ素を含まないビニル系重合体」は、固定化酵素層等の他の有機高分子層との密着性を良好にする役割を有する部分であるから、特に構造の制限はないが、フッ素を含むものであってはならない。ペンダント基を除く重合体部分にフッ素を含むと、固定化酵素層等の他の有機高分子層との密着性が低下し、溶液の調整が困難となり、制限透過層を薄膜として形成することが困難になる。フッ素を含まないビニル系重合体は、炭素-炭素結合からなる主骨格を有する重合体であり、好ましい例としては、不飽和炭化水素、不飽和カルボン酸、および不飽和アルコールからなる群より選ばれた一種以上のモノマーの単独重合体または共重合体が挙げられる。このうち特にポリカルボン酸が好ましい。このような重合体を選択することによって、固定化酵素層等の他の有機高分子層との密着性が特に良好となり、耐久性に優れる制限透過層を得ることができる。また、ビニル系重合体に対し、フルオロアルキレンブロックがエステル基を介して結合していることが好ましい。エステル基は適度な極性を有しているため、固定化酵素層等の他の有機高分子層との密着性がより向上する。また、フルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基とは、フルオロアルキレンを構成単位として含有するペンダント基をいう。フルオロアルキレンとは、アルキレン基の水素の一部または全部をフッ素で置換したものをいう。

【0049】制限透過層 7 の構成材料は、以上述べたポリマー材料により構成されるが、このうち、ポリカルボン酸のフルオロアルコールエステルが特に好ましい。ポリカルボン酸の例としては、ポリアクリル酸、ポリメタクリル酸、アクリル酸とメタクリル酸の共重合体等が挙げられる。ポリカルボン酸のフルオロアルコールエステルとは、ポリカルボン酸の一部、または全部がフルオロアルコールでエステル化されたものをいう。フルオロアルコールとはアルコール中の水素のすべて、または少な

くとも一つがフッ素に置換されたものである。ポリカルボン酸のカルボキシル基はすべてがエステル化されていてもよいが、一部がエステル化されていればよい。均一な特性が得られる点で、0.1%以上がエステル化されていることが望ましい。ポリフルオロアルコール中の炭素数は、製膜後に優れた耐久性が得られる5から9の範囲が好ましく、製膜し易くなる8がさらに好ましい。また、ポリフルオロアルコールの級数は耐久性および耐薬品性が最も高くなる一級がよい。ポリカルボン酸のフルオロアルコールエステルのうち特に好ましいのは、ポリ

10 メタクリル酸1H、1H-パーフルオロオクチルおよびポリアクリル酸1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシルである。優れた制限透過性が安定して得られる上、製膜し易く、酸アルカリおよび各種有機溶媒に対する耐性が高いからである。

【0050】制限透過層の構成材料として、ポリカルボン酸のアルキルアルコールエステルを導入してもよい。たとえば、制限透過層を、ポリカルボン酸(A)のフルオロアルコールエステルと、ポリカルボン酸(B)のアルキルアルコールエステルとを含む構成とすることができ、また、制限透過層を、アルキルアルコールエステル基およびフルオロアルコールエステル基を有するポリカルボン酸エステル化合物から主としてなる構成とすることもできる。なお、ポリカルボン酸(A)とポリカルボン酸(B)は、同種のものであっても異種のものであってもよい。また、「主としてなる」とは、上記ポリマーが制限透過層を構成する主成分となっていることをいい、たとえば、制限透過層に対する上記ポリマーの含有率が50重量%以上であることをいう。制限透過層を上記のような構成とすると、高温安定性の良好な酵素電極

30 が得られる。なお、制限透過層を構成するポリマーの分子量は、好ましくは1000~50000、さらに好ましくは3000~30000とする。分子量が大きすぎると溶液の調整が困難となり、制限透過層の薄層化が困難となることがある。分子量が小さすぎると十分な制限透過性が得られない場合がある。なお、ここでいう分子量とは数平均分子量をいい、GPC (Gel Permeation Chromatography) により測定することができる。

【0051】制限透過層7は、上述したポリマーの溶液をスピンコート法により塗布することにより形成される。たとえばパーフルオロヘキサンのパーフルオロカーボンの溶媒で希釈したポリメタクリル酸のポリフルオロアルコールエステル溶液を、触媒機能をもつ酵素を固定化した固定化酵素層4上に滴下してスピンコート法により形成することができる。この際、溶液中の濃度は、測定対象物質にもよるが、好ましくは0.1~5重量%

40 %、さらに好ましくは0.3重量%程度とする。この範囲とすることにより良好な制限透過性が発現するからである。

【0052】なお制限透過層7の形成方法については、

均一な厚さの層が得られる方法であれば制限がなく、スピンコート法以外にもスプレーコート法やディップ法なども用いることができる。

【0053】上述した特有の構造を有するポリマーからなる制限透過層7を設けることにより、タンパク質や尿素化合物等の汚染物質の付着が抑制される。このため、電極保護層3による汚染物質の付着抑制効果との相乗効果が得られ、長期使用した場合にも安定した出力特性が得られるという効果が得られる。また、良好な制限透過性が得られ、測定濃度範囲を大幅に拡大できるという効果も得られる。さらに、制限透過層7と固定化酵素層4との密着性が高いため、溶液中の測定対象物を長期間安定して測定することが可能となる。くわえて、乳酸等のイオン化した物質についても安定した測定が可能となる。制限透過層が荷電を有しないため乳酸等のイオン化した物質との相互作用が小さいためである。

20 【0054】本実施形態のセンサをグルコースセンサとして使用する場合、最外層の制限透過層7がグルコースの拡散速度を制限し、グルコース酸化酵素を使用した固定化酵素層4が拡散してきたグルコースと酸素で触媒反応して過酸化水素とグルコンラクトンを発生し、このうち過酸化水素が電極2に到達した際の酸化電流を測定してグルコースの濃度を知ることが出来る。また、測定時の電極系は、2極法の場合には外部から既存の参照極を使用し、3極法の場合は対極、参照極の両方を測定溶液中に同時に浸漬する。

30 【0055】(第4の実施形態)次に、本発明の第4の実施の形態について図面を参照して説明する。本実施形態の酵素電極は、図4に示すように、絶縁基板1上に作用極8、対極9および参照極10を形成し、作用極8、対極9上に電極保護層5、その上にγ-アミノプロピルトリエトキシシランから主としてなる結合層3、その上にパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂から主としてなるイオン交換樹脂層6、その上に触媒機能をもった酵素を固定化した固定化酵素層4、そしてその上に制限透過層7が順次形成された構造を有する。作用極8及び対極9は、電極2と同様のものであればよい。参照極10の材料は銀/塩化銀が用いられる。

40 【0056】このような構成とすると、作用極、対極、参照極が一つの絶縁基板上に形成されるためセンサを駆動しながら溶液を交換することが可能になる。センサ表面が電解質等で濡れている限り、作用極、対極および参照極の電極間は電氣的に接続されることから、センサが一時的に空気に触れても計測が継続できるからである。また、3極法による正確な電気化学測定が可能になり、特に微小な電流検出型の酵素電極を実現することが可能になる。

50 【0057】(第5の実施の形態)本実施形態は、本発明に係る酵素電極の製造方法の一例を示すものである。まず石英からなる基板上に、白金からなる作用極と対

極、および銀/塩化銀からなる参照極を形成する。

【0058】次に各電極の表面および基板表面を洗浄する。洗浄方法としては、有機溶媒や酸等により洗浄する方法や超音波洗浄器を用いて洗浄する方法を用いることができ、これらを併用することもできる。有機溶媒や酸等としては、電極材料を損傷させないものが用いられる。有機溶媒としては極性溶媒が好ましく用いられ、アセトン等のケトン系溶媒、イソプロピルアルコール等のアルコール系溶媒を用いることができる。また、酸としては、希硫酸等が用いられる。このほか、電解カソード水を用いることもできる。電解カソード水とは、純水等を電気分解した際に陰極側に生成される液のことをいう。電解カソード水は中性～弱アルカリ性でありながら高い還元性を有するため、基板や電極の損傷を抑えつつ、基板表面および付着粒子の表面の電位をとともに負電位とすることができ、脱離粒子の再付着を抑制することができる。上記したうち、たとえば、アセトンおよび希硫酸で順次洗浄するという方法が好ましく用いられる。

【0059】次に電極保護層を形成する。前述したように、電極保護層は、たとえば、浸漬法、プラズマ重合法、電解法等で形成され、電解法が好ましく用いられる。この際、混合溶液中の尿素濃度は、好ましくは0.1 mM～6.7 M、さらに好ましくは1 M～6.7 Mとする。また、混合溶液中の塩化ナトリウム濃度は、好ましくは0.1 mM～2 M、さらに好ましくは1.5 mM～150 mMとする。このようにすることによって良質な電極保護層が得られ、汚染物質の電極への付着を効果的に制限するとともに、干渉物質の透過を制限して良好な選択性を得ることができる。さらに、γ-アミノプロピルトリエトキシシランから主としてなる結合層3との密着性も向上する。なお、電解法を用いた場合は、白金電極部に選択的に尿素化合物層が形成することができる。

【0060】次いで、作用極、対極および参照極の表面に結合層を形成する。前述のように、結合層を構成する材料としては、γ-アミノプロピルトリエトキシシラン等のシランカップリング剤が好ましく用いられる。

【0061】カップリング剤液等の塗布方法としては、スピンコート法、スプレー法、ディップ法、加熱気流法等が用いられる。スピンコート法とは、カップリング剤等、結合層の構成材料を溶解または分散させた液をスピンコーターにより塗布する方法である。この方法によれば膜厚の薄い結合層を膜厚制御性良く形成することができる。また、スプレー法とはカップリング剤液等を基板に向けてスプレー噴霧する方法であり、ディップ法とは基板をカップリング剤液等に浸漬する方法である。これらの方法によれば、特殊な装置を必要とせず、簡便な工程で結合層を形成することができる。また加熱気流法とは、基板を加熱雰囲気下に設置し、ここにカップリング剤液等の蒸気を流動させる方法である。この方法によつ

ても膜厚の薄い結合層を膜厚制御性良く形成することができる。

【0062】カップリング剤液等の塗布後、乾燥を行う。乾燥温度は特に制限がないが、通常、室温(25℃)～170℃の範囲で行う。乾燥時間は、温度にもよるが、通常は0.5～24時間とする。乾燥は空気中で行っても良いが、窒素等の不活性ガス中で乾燥させてもよい。たとえば、窒素を基板に吹き付けながら乾燥させる窒素ブロー法を用いることもできる。

10 【0063】結合層形成後、酵素溶液を塗布し、固定化酵素層を形成する。固定化酵素層は、作用極および対極表面にのみ形成してもよい。酵素溶液の塗布方法としては、スピンコート法、ディップ法(浸漬法)等が用いられ、このうち膜厚制御性に優れるスピンコート法が好ましく用いられる。酵素溶液の塗布後、乾燥を行う。乾燥温度は酵素の活性が損なわれない範囲の温度とする。室温(25℃)～40℃の範囲とすることが好ましい。乾燥時間は、温度にもよるが0.5～24時間とする。乾燥は空気中で行っても良いが、窒素等の不活性ガス中で乾燥させてもよい。たとえば、窒素を基板に吹き付けながら乾燥させる窒素ブロー法を用いることもできる。

20 【0064】次に、ポリカルボン酸のフルオロアルコールエステル溶液等を塗布し、制限透過層を形成する。制限透過層は、作用極および対極表面にのみ形成してもよい。上記溶液の塗布方法としては、スピンコート法、ディップ法、スプレー法、刷毛塗り法等が用いられ、このうち膜厚制御性に優れるスピンコート法が好ましく用いられる。スピンコート法を用いた場合、0.01～3 μm程度の薄膜からなる制限透過層を制御性良く形成することができる。また、基板を上記容積に浸漬するディップ法により塗布を行い、次いで窒素ガスを吹き付けながら乾燥を行う方法としてもよい。この方法によれば、簡便な方法で制限透過層を形成することができる。

30 【0065】上記溶液の塗布後、乾燥を行う。乾燥温度は、固定化酵素層の酵素の活性が損なわれない範囲の温度とすることが望ましく、室温(25℃)～40℃の範囲とすることが好ましい。乾燥時間は、温度にもよるが、通常、0.5～24時間とする。乾燥は空気中で行っても良いが、窒素等の不活性ガス中で乾燥させてもよい。たとえば、窒素を基板に吹き付けながら乾燥させる窒素ブロー法を用いることもできる。

【0066】以上のようにして、電極上に特定の機能を有する種々の層が形成された酵素電極が作製される。なお、本実施形態では作用極、対極、参照極の3極からなるバイオセンサについて説明したが、白金からなる作用極と参照極を石英基板上に設けた構成としてもよい。

【0067】(第6の実施形態)本発明の酵素電極を用いたセンサの例を図13に示す。この例では、作用極8として酵素電極を用い、石英基板上にさらに対極9と参照極10とを備えた構造となっている。作用極8および

対極 9 は白金電極であり、参照極 10 は銀／塩化銀電極である。作用極 8 は尿素からなる電極保護層 5 により全面が被覆されている。その上に、γ-アミノプロピトリエトキシシランを主成分とする結合層 3、ナフィオンからなるイオン交換樹脂層 6、固定化酵素層 4、メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステル層からなる制限透過層 7 が順次形成されている。作用極 8、対極 9、参照極 10 はそれぞれ測定系に電氣的に接続されている。

【0068】本実施形態では、同一の絶縁基板 1 上に作用極 8、対極 9 および参照極 10 を形成しているが、これらを複数の基板上に形成した構成としてもよい。図 14 (a) は作用極 8、対極 9 および参照極 10 をそれぞれ異なる絶縁基板 1 上に形成したものであり、図 14 (b) は、作用極 8 および対極 9 を同一の絶縁基板 1 上に形成し、参照極 10 を異なる絶縁基板 1 上に形成したものである。

【0069】本実施形態ではアンペロメトリックタイプのセンサの例を示したが、本発明の酵素電極は、イオン感受性電界効果型トランジスタタイプのセンサにも適用

【0070】(第 7 の実施の形態) 本実施形態は、バイオセンサ、電気化学測定回路部、データ処理部、およびデータ報知部を具備した本発明の測定器の一例を示すものである。以下、図 16 および図 17 を参照して説明する。

【0071】この測定器は、図 16 に示すように、バイオセンサ 50、電気化学測定回路部 51、データ処理部 52 およびデータ報知部 53 が、配線 54 により接続された構成となっている。

【0072】バイオセンサ 50 は、たとえば、第 1 から第 4 の実施形態で説明した酵素電極を具備するものを用いることができる。バイオセンサ 50 は消耗品であるため、交換が容易な脱着式とすることが好ましい。

【0073】電気化学測定回路部 51 は、本実施形態ではポテンシostat を用いるが、バイオセンサ 50 に対して定電位を印加し、電流値を測定できる回路であれば、特に限定されない。

【0074】データ処理部 52 は、図 17 に示す構成となっており、計時手段 60、時刻設定手段 61、時刻報知手段 62、操作説明手段 63、測定値記憶手段 64、暗証番号登録手段 65、メモ登録手段 66、動作報知手段 67、校正時期報知手段 68、電極交換時期報知手段 69、異常電流値報知手段 70 および電極校正手段 71 を含んでいる。上記各手段を含む構成となっているため、本測定器の使用者は、電極の校正、測定、測定データの保存等を円滑に行うことができる。本実施形態では、データ処理部 52 としてパーソナルコンピュータ(以下、パソコンと記述する)を用いているが、電気化学測定回路部 51 からの信号を処理できるマイクロプロ

セッサ等の演算部を持つものであれば特に限定されない。データ処理部 52 で処理された信号は測定値に換算され、データ報知部 53 で測定値として表示される。

【0075】データ報知部 53 は、本実施形態ではパソコン用のディスプレイを用いているが、データ処理部 52 によって処理されたデータを報知する機能を有するものであれば特に限定されない。データ処理部 52 によって処理されたデータとは、データ処理部 52 で算出された測定値、バイオセンサ 50 の動作確認および誤作動の確認、異常電流値検出結果、バイオセンサ 50 の交換時期、バイオセンサ 50 の校正時期および校正手順、日付、時刻、時計、データ処理部 52 の演算部によって処理された電気化学測定回路部 51 からの信号、初期設定時の操作手段と操作時に操作アドバイスをを行うときの操作説明等である。報知する手段はデジタル数値、アナログ数値、音声である。これ以外の報知手段として、音、光、振動、色彩、光、図形、熱を利用しても良いが、デジタル数値やアナログ数値が好ましく用いられる。

【0076】配線 54 はこれらを接続できる電線であればよい。

【0077】次に、データ処理部 52 に含まれる各手段(図 17)について説明する。

【0078】計時手段 60 は、本実施形態ではパソコンに内蔵されている時計を利用するが、前記演算部に対して、時間を示す機能を有するものであれば、特に限定されない。

【0079】時刻設定手段 61 は、計時手段 60 を利用して測定する時刻を設定する機能である。本実施形態では計時手段 60 と同様にパソコンに内蔵されている時計の機能の一部を利用するが、前記演算部に対して、時間を示す機能にさらに測定する時刻を設定できる機能を有するものであれば、特に限定されない。また、設定できる時刻は複数であることが好ましい。このようにすれば、一日に複数回の測定を行いたい場合に便利である。なお時刻設定手段 61 の利用の有無を選択可能になっていると、さらに便利である。

【0080】時刻報知手段 62 は、時刻設定手段 61 で設定された時刻に報知する機能である。例えば時刻設定手段 61 で 12 時間毎に報知するように設定すると、測定者は 12 時間毎に時刻報知手段 62 から測定時刻を知ることが可能になる。

【0081】操作説明手段 63 は、本発明の測定器の操作方法や操作を行う際の留意事項を説明する機能を有する。操作説明手段 63 の利用の有無は、設定により適宜選択できるようになっている。

【0082】測定値記憶手段 64 は、本測定器による測定値やその他の情報を記憶する手段であり、半導体記憶素子として RAM (ランダム・アクセス・メモリ) が好ましく使用される。測定値記憶手段 64 は複数の測定を記憶できるようになっていることが好ましい。測定値記

憶手段 64 は、測定値だけでなく、データ処理部 52 において処理される種々の情報も記憶できるようになっている。記憶させる情報は、設定により適宜制限される。

【0083】暗証番号登録手段 65 は、特定人物以外の測定装置の使用と測定値の情報を制限する機能を有しており、これを備えていることにより使用者のプライバシーを保護することが可能となる。暗証番号の設定は 4 桁以上の数値もしくは英数字が、高い安全性を確保できる点で好ましい。また暗証番号登録手段 65 は、複数の暗証番号を登録できるものであることが望ましい。このようにすれば複数の使用者のプライバシーを保護することが可能となる。本実施形態では 4 桁の暗証番号を入力しないと、すべての情報の入出力を行うことができないようになっている。なお、暗証番号登録手段 65 の利用の有無は設定により適宜変更できるようになっている。

【0084】メモ登録手段 66 は、メモを登録できるメモ登録手段と、登録したメモ群を呼び出すメモ項目手段と、呼び出したメモ群から登録したいメモ項目を選択するメモ選択手段と、メモ選択手段で選択したメモを呼び出すメモ呼び出し手段とを備えた構成とすることが好ましい。本実施形態ではこのような構成となっており、測定者の情報として、例えば測定時の体重、血圧、体温をメモ登録手段を用いて登録する。なお、メモ登録手段 66 の利用の有無は、設定により適宜変更できるようになっている。

【0085】動作報知手段 67 は、バイオセンサ 50 と電気化学測定回路部 51 とデータ処理部 52 との間の配線 54 が断線しているか、もしくは少なくとも一つが接続されていない状態となっている場合に、このことを報知する機能を有している。なお、動作報知手段 67 の利用の有無は、設定により適宜変更できるようになっている。

【0086】校正時期報知手段 68 は、バイオセンサ 50 の校正時期を報知する手段である。酵素電極を一定程度使用すると校正が必要となるが、校正時期報知手段 68 はこの校正時期を報知する機能を有している。校正時期の判断は、測定時間または測定回数を基準に行うことができる。本実施形態では、設定により、これらの両方もしくはいずれか一方を基準とすることができるようになっている。

【0087】電極交換時期報知手段 69 は、バイオセンサ 50 に含まれる電極の交換時期を報知する機能である。交換時期の判断は、測定時間または測定回数を基準に行うことができる。本実施形態では、設定により、これらの両方もしくはいずれか一方を基準とすることができるようになっている。

【0088】異常電流値報知手段 70 は、バイオセンサ 50、電気化学測定回路部 51、データ処理部 52 およびこれらを接続する配線 54 に異常電流が流れ、測定不能な状態に陥ったり、これらの一部が破損したことを報

知する手段である。

【0089】なお、動作報知手段 67、校正時期報知手段 68、電極交換時期報知手段 69、および異常電流値報知手段 70 における「報知」は、たとえば前述したデータ報知部を介して行われ、これにより所定の情報が測定器の使用者に伝達される。

【0090】電極校正手段 71 は、初期使用時や校正時期において使用されるものであり、バイオセンサ 50 の校正手順を説明するとともにバイオセンサ 50 を校正する機能を有している。校正手順の説明等は、校正時期報知手段 68 を介して行われる。

【0091】本実施形態の測定器を用いると、バイオセンサの使用壽命や校正時期、測定器の操作手順等が表示されるため、装置の取り扱いに不慣れな人でも、高い精度の測定を容易に行うことができる。

【0092】本実施形態では、図 16 に示すように、バイオセンサ 50、電気化学測定回路部 51、データ処理部 52 およびデータ報知部 53 が、配線 54 により接続された構成としたが、電気化学測定回路部 51 を設けずに電気化学測定回路部 51 とデータ報知部 53 が直接に接続した構成とすることもできる。このようにした場合、バイオセンサ 50 から得られたアナログ信号がそのままデータ報知部 53 に送られ、目盛と針を用いた表示方法等により測定値が表示される。この場合、表示された値を尿糖値や血糖値に換算する表等を添付すれば便利である。

【0093】(第 8 の実施の形態) 本実施形態は、図 16 の測定器に、更に温度センサ 56、pH センサ 57 を具備した測定器の一例を示すものである。以下、図 18 を参照して説明する。

【0094】この測定器は、図 18 に示すように、バイオセンサ 50 と、電気化学測定回路部 51 と、データ処理部 52 と、データ報知部 53 と、温度センサ 56 と、pH センサ 57 とが配線 54 で接続されている。

【0095】データ処理部 52 では温度センサ 56 と pH センサ 57 からの電気信号を処理し、温度および pH を算出する。そして、データ処理部 52 において算出される測定試料中の特定成分の測定値が、温度および pH をもとに補正され、データ報知部 53 で表示される。

【0096】温度センサ 56 は、データ処理部 52 で処理できる形式のデータを得ることができるものであれば、特に限定されないが、熱電対温度計や抵抗温度計が好ましい。温度センサ 56 は、測定試料の温度または測定環境の温度を測定するものとする。測定試料の温度を測定する場合は、たとえば酵素電極を含むバイオセンサの設けられた基板上に温度センサ 56 を形成する。このようにすれば測定試料の温度を精度良く測定でき、測定試料中の特定成分の測定にあたって正確に補正を行うことができる。また、バイオセンサと独立した温度センサを備える構成とし、バイオセンサと温度センサ 56 を同

時に測定試料中に浸漬する方式とすることもできる。このようにすれば、バイオセンサの交換の際に同時に温度センサも交換する必要はなく、低コスト化を図ることができる。測定環境の温度を測定する場合は、バイオセンサと独立した温度センサを備える構成とし、温度センサ 56 を測定環境中に設置する。温度センサ 56 は、たとえばデータ報知部 53 や電気化学測定回路部 51 の内部に設置する。このようにすれば、測定環境が、測定可能な温度条件内にあるかどうかを容易にチェックすることが可能となる。

【0097】図 15 はバイオセンサの設けられた基板上に温度センサ 56 を形成した測定器の一例を示すものである。この測定器は、絶縁基板 1 上に作用極 8、対極 9、および参照極 10 が形成され、併せて温度センサ 56 が設けられている。作用極 8、対極 9、および温度センサ 56 の上には、結合層 3、イオン交換樹脂層 6、固定化酵素層 4 および制限透過層 7 がこの順で形成されており、参照極 9 上には、結合層 3、イオン交換樹脂層 6、保護層 20 が形成されている。このような構成とすれば、温度による測定値の補正を正確に行うことができる。

【0098】pH センサ 57 は、ガラス電極やイオン感受性電界効果型トランジスタを好ましく用いることができるが、これらに限定されるものではない。pH センサ 57 の較正には、バイオセンサ 50 を構成する際に使用する較正液中に pH 指示薬を予め溶解したものをを用いることができる。このようにすれば、バイオセンサ 50 と pH センサ 57 の較正を同時に行うことが可能となる。pH 指示薬は通常のガラス pH メータに使用されているシュウ酸塩溶液やフタル酸塩溶液が好ましい。

【0099】本実施形態の測定器を用いれば、温度範囲および pH 範囲の広い測定試料中の特定成分を正確に測定することが可能になる。測定した測定試料毎の温度、pH を用いて、酵素電極の測定値を補正できるからである。

【0100】なお、本実施形態では温度センサ 56 および pH センサ 57 が、データ処理部 52 に接続した構成をとっているが、これらが電気化学測定回路部 51 に接続していてもよい。

【0101】（第 9 の実施の形態）本実施形態は、図 18 の測定器に対し、データ処理部に接続された通信処理部をさらに具備した構成とし、この通信処理部により、データ処理部で得られたデータが、測定器の外部に転送されるようにしたものである。以下、図 19 を参照して説明する。

【0102】本実施形態の測定器は、図 19 に示すように、データ処理部 52 と通信処理部 58 とが配線 54 で接続された構成となっている。通信処理部 58 は測定値に関する情報を外部に伝達する手段である。通常モデムが使用されるが、通信処理機能を有するものであれば限

定されない。伝達に使用される通信回線として、電話回線、赤外線、無線等が挙げられるが、これらに限定されるものではない。伝達される情報としては、データ処理部 52 において処理される情報、データ報知部 53 で表示される情報が挙げられる。例えばバイオセンサ 50 の電流値、暗証番号、測定時刻、pH、温度、メモ内容、データ処理部 52 で算出された測定値、バイオセンサ 50 の交換時期、バイオセンサ 50 の較正時期、バイオセンサ 50 の動作確認および誤作動の確認、異常電流値、データ処理部 52 の演算部によって処理された電気化学測定回路部 51 からの信号が、通信処理部 58 によって測定器の外部に伝達される。伝達先は、通信回線等を通じて接続されたサーバーやコンピュータ等である。なお、伝達される情報は、設定により、適宜選択することができるようになっている。

【0103】本実施形態の測定器を用いれば、在宅で糖尿病患者自身が自分の尿糖を測定し、電話回線を通じて測定結果を病院等の医療機関に送信することが可能になる。その結果、医療機関から食事管理や運動管理等の適切なアドバイスを受けられ、在宅で糖尿病患者の病態管理が可能になる。さらに、酵素電極の誤作動等のデータも送ることができるため、例えば製造メーカから装置の修理や保全といったサービスも適宜受けることも可能になる。

【0104】（第 10 の実施の形態）本実施形態は、図 19 の測定器に、更に印刷部 59 を具備した測定器の一例を示すものである。以下、図 20 を参照して説明する。

【0105】本実施形態の測定器は、図 20 に示すように、データ処理部 52 と印刷部 59 とが配線 54 で接続された構成となっている。印刷部 59 は、感熱式、熱転写式、ドットインパクト式、インクジェット式、レーザービーム乾式であればよいが、特に限定されない。望ましくは、低コストで構造の簡単な感熱式がよい。印刷部 59 と接続される配線 54 は、電線でなくとも、印刷部 59 を使用しないときの使用形態を考慮して、赤外線を用いてもよい。印刷部 59 は、データ報知部 53 に表示されるデータを印刷できればよいが、設定により、印刷するデータを限定することもできる。

【0106】本実施形態の測定器を用いれば、測定値等のデータを紙に印刷して保存しておくことが可能になるだけでなく、糖尿病患者が印刷機能を利用して測定結果をプリントした用紙を病院に持っていき医師に結果を示し、この測定結果を見た医師から適切なアドバイスを受けることが可能になる。

【0107】（第 11 の実施の形態）本実施形態は、図 20 の測定器に、更に外部記憶部 55 を具備した測定器の一例を示すものである。以下、図 21 を参照して説明する。

【0108】本実施形態の測定器は、図 21 に示すよう

に、データ処理部 52 と外部記憶部 55 とが配線 54 で接続された構成となっている。外部記憶部 55 としては、通常の記憶媒体を用いることができ、フロッピーディスク等の磁気記憶媒体や、メモリーカード等の半導体記憶媒体、および光ディスク等の光記憶媒体が好ましく用いられる。脱着が容易で、低価格で入手できるためである。

【0109】本実施形態の測定器を用いれば、測定したデータを記憶媒体に保存することができるので、使用者は、必要に応じて病院にこの記憶媒体を持参することができる。そして、病院の医師は記憶された測定データを解析し、糖尿病患者等に適切な医療措置を施すことが可能になる。また、大量の測定データを長期間保存することも可能になる。さらに、暗証番号によって管理するため、患者のプライバシーを守ることにも可能になり、一台の装置を複数人で使用することもできる。なお、記憶させる内容は、設定により、適宜選択できるようになっている。

【0110】

【実施例】以下、実施例により本発明をより詳細に説明する。

【0111】（実施例 1）まず 10 mm×6 mm の石英基板上に、白金からなる作用極（面積 7 mm²）と対極（面積 4 mm²）、銀／塩化銀からなる参照極（面積 1 mm²）を形成した。次にこれを 150 mM の塩化ナトリウムを含む 6 M 尿素溶液中に浸漬し、参照極に対し作用極に 0.7 V、10 分間印加した。このようにして作用極上に電極保護層となる尿素層を形成した。尿素層が形成されていることの確認は、同様の処理を行った試料について赤外吸収スペクトルを観測することにより行った。その結果、3440、3340、1640、および 1470 cm⁻¹ に尿素由来の赤外線吸収スペクトルが得られた。尿素は白金に付着しやすいため、白金電極部分にのみ選択的に形成されていた。

【0112】つづいて 1 v/v% の γ-アミノプロピルトリエトキシシラン溶液をスピコートして結合層を形成した。その後、グルコース酸化酵素を含み、かつ 1 v/v% のグルタルアルデヒドを含む 2.5 w/v% アルブミン溶液をスピコートして、固定化酵素層を形成し、酵素電極を作製した。

【0113】比較として、尿素層を形成しなかったこと以外は上記と同様にして酵素電極を形成した。

【0114】以上のようにして電極部（検出部）を形成した 2 種類のグルコースセンサを、150 mM の塩化ナトリウムを含む pH 7 の TES（エヌ・トリス（ハイドロキシメチル）・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド）緩衝液中に浸漬して保存し、約 20 mg/dl のグルコースを含むバイオラッド（株）社製の定量尿コントロール正常（ライフチェック）中のグルコースを 5 回乃至 10 回連続して測定した。図 5 に 2 種

のセンサのグルコースに対するセンサ出力を、初回の出力値を 100% としたときの相対出力値で示した。

【0115】その結果、尿素層なしのグルコースセンサは 2 回目の測定以降にセンサ出力が急激に低下し始め、センサ出力は 4 回目で約 52% まで低下した。一方、尿素層有りのセンサでは、10 回の繰り返し測定では安定した出力を示した。尿素層有りのセンサが安定した出力を示した理由は、同膜が定量尿コントロール正常中の汚染物質の電極への透過を実質的に完全に制限しているためである。

【0116】（実施例 2）まず 10 mm×6 mm の石英基板上に、白金からなる作用極（面積 7 mm²）と対極（面積 4 mm²）、銀／塩化銀からなる参照極（面積 1 mm²）を形成した。次にこれを 150 mM の塩化ナトリウムを含む 6 M 尿素溶液中に浸漬し、参照極に対し作用極に 0.7 V、10 分間印加した。このようにして作用極上に尿素層を形成した。

【0117】つづいて 1 v/v% の γ-アミノプロピルトリエトキシシラン溶液をスピコートして結合層を形成した。その後、5 w/v% のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂（ナフィオン）溶液をスピコートして、イオン交換樹脂層を形成した。

【0118】比較として、尿素層を形成しなかったこと以外は上記と同様にして電極上に結合層、イオン交換樹脂層を形成した。

【0119】以上のようにして電極部（検出部）を形成した 2 種類のセンサを、150 mM の塩化ナトリウムを含む pH 7 の TES（エヌ・トリス（ハイドロキシメチル）・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド）緩衝液中に浸漬して保存し、100 μM の過酸化水素、50 mg/dl のアスコルビン酸および 8 mg/dl のアセトアミノフェンに対するセンサ出力を測定した。尿素層有りのセンサ出力を、尿素層無しセンサ出力を 100% としたときの相対出力値で示した（図 6）。

【0120】その結果、尿素層を作用極表面に形成することによって干渉物質であるアスコルビン酸およびアセトアミノフェンの透過が制限され、過酸化水素の選択透過性が向上することがわかった。

【0121】（実施例 3）まず 10 mm×6 mm の石英基板上に、白金からなる作用極（面積 7 mm²）と対極（面積 4 mm²）、銀／塩化銀からなる参照極（面積 1 mm²）を形成した。次にこれを 150 mM の塩化ナトリウムを含む 6 M 尿素溶液中に浸漬し、参照極に対し作用極に 0.7 V、1、3、9、27 分間印加した。すなわち、印加時間を変えて作用極上に尿素層を形成した。

【0122】つづいて 1 v/v% の γ-アミノプロピルトリエトキシシラン溶液をスピコートして結合層を形成した。その後、5 w/v% のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂（ナフィオン）溶液をスピコートして、イオン交換樹脂層を形成した。

【0123】比較として、尿素層を形成しなかったこと以外は上記と同様にして電極上に結合層、イオン交換樹脂層を形成した。

【0124】以上のようにして電極部（検出部）を形成した2種類のセンサを、150 mMの塩化ナトリウムを含むpH 7のTES（エヌ・トリス（ハイドロキシメチル）・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド）緩衝液中に浸漬して保存し、100 μ Mの過酸化水素、50 mg/dlのアスコルビン酸および8 mg/dlのアセトアミノフェンに対するセンサ出力を測定した。各印加時間のセンサ出力を、尿素層無しセンサ出力を100%としたときの相対出力値で示した（図7）。

【0125】その結果、6 Mの尿素と150 mMの塩化ナトリウムを含む溶液中で3分以上印加してセンサ表面に尿素層を形成することによって、妨害物質であるアスコルビン酸およびアセトアミノフェンの透過が効率よく制限され、過酸化水素の選択透過性が最も向上することが明らかになった。

【0126】（実施例4）まず10 mm \times 6 mmの石英基板上に、白金からなる作用極（面積7 mm²）と対極（面積4 mm²）、銀/塩化銀からなる参照極（面積1 mm²）を形成した。次にこれを150 mMの塩化ナトリウムを含む0.1 mM、0.1、1、6 M尿素溶液中に浸漬し、参照極に対し作用極に700 mV、10分間印加して作用極上に尿素層を形成した。

【0127】つづいて1 v/v%の γ -アミノプロピルトリエトキシシラン溶液をスピンコートして結合層を形成した。その後、5 w/v%のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂（ナフィオン）溶液をスピンコートして、イオン交換樹脂層を形成した。

【0128】比較として、尿素層を形成しなかったこと以外は上記と同様にして電極上に結合層、イオン交換樹脂層を形成した。

【0129】以上のようにして電極部（検出部）を形成した2種類のセンサを、150 mMの塩化ナトリウムを含むpH 7のTES（エヌ・トリス（ハイドロキシメチル）・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド）緩衝液中に浸漬して保存し、100 μ Mの過酸化水素、50 mg/dlのアスコルビン酸および8 mg/dlのアセトアミノフェンに対するセンサ出力を測定した。各センサ出力を、尿素層無しセンサ出力を100%としたときの相対出力値で示した（図8）。

【0130】その結果、通電時間を10分間、印加電圧を700 mVとして、0.1 mM以上の尿素溶液で処理することによって、過酸化水素に対する良好な選択性が得られることが明らかになった。

【0131】（実施例5）まず10 mm \times 6 mmの石英基板上に、白金からなる作用極（面積7 mm²）と対極（面積4 mm²）、銀/塩化銀からなる参照極（面積1 mm²）を形成した。次にこれを150 mMの塩化ナト

リウムを含む6 M尿素溶液中に浸漬し、参照極に対し作用極に0.7 V、10分間印加した。このようにして作用極上に尿素層を形成した。尿素層が形成されていることの確認は、同様の処理を行った試料について赤外吸収スペクトルを観測することにより行った。

【0132】つづいて1 v/v%の γ -アミノプロピルトリエトキシシラン溶液をスピンコートして結合層を形成した後、5 w/v%のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂（ナフィオン）溶液をスピンコートしてイオン交換樹脂層を形成した。次に、グルコース酸化酵素を含み、かつ1 v/v%のグルタルアルデヒドを含む2.5 w/v%アルブミン溶液をスピンコートして、固定化酵素層を形成した。さらにその後、パーフルオロヘキサンを用いて0.3重量%に調整したメタクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル溶液を順次スピンコートしてメタクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステルからなる制限透過層を形成し、酵素電極を作製した。

【0133】比較として、尿素層を形成しなかったこと以外は上記と同様にして酵素電極を形成した。

【0134】以上のようにして電極部（検出部）を形成した2種類のセンサを、150 mMの塩化ナトリウムを含むpH 7のTES（エヌ・トリス（ハイドロキシメチル）・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド）緩衝液中に浸漬して保存し、約302 mg/dlのグルコースを含むバイオラッド（株）社製の定量用尿コントロール異常（ライフォチェック）中のグルコースを4回乃至6回連続して測定した。図9に2種センサのグルコースに対するセンサ出力を、初回の出力値を100%としたときの相対出力値で示した。

【0135】その結果、尿素層なしのグルコースセンサは2回目の測定以降にセンサ出力が低下し始め、センサ出力は4回目で約53%まで低下した。一方、尿素層有りのセンサでは、6回の繰り返し測定では安定した出力を示した。尿素層有りのセンサの出力が安定していた理由としては、同膜が定量用尿コントロール異常中の汚染物質の電極への透過を実質的に完全に制限しているためである。

【0136】（実施例6）まず10 mm \times 6 mmの石英基板上に、白金からなる作用極（面積7 mm²）と対極（面積4 mm²）、銀/塩化銀からなる参照極（面積1 mm²）を形成した。次にこれを150 mMの塩化ナトリウムを含む6 M尿素溶液中に浸漬し、参照極に対し作用極に0.7 V、10分間印加した。このようにして作用極上に尿素層を形成した。

【0137】つづいて1 v/v%の γ -アミノプロピルトリエトキシシラン溶液をスピンコートして結合層を形成した。その後、5 w/v%のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂（ナフィオン）溶液をスピンコートして、イオン交換樹脂層を形成し、センサの検出部を作製した。

【0138】比較として、10 mm \times 6 mmの石英基板

上に、白金からなる作用極（面積 7mm^2 ）と対極（面積 4mm^2 ）、銀／塩化銀からなる参照極（面積 1mm^2 ）を形成した後、 1v/v\% のγ-アミノプロピトリエトキシシラン溶液、 2w/v\% のアセチルセルロース溶液、 5w/v\% のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂（ナフィオン）溶液を順次スピンコートして製膜し、センサの電極部を作製した。

【0139】以上のようにして電極部（検出部）を形成した2種類のセンサを、 150mM の塩化ナトリウムを含む $\text{pH}7$ のTES（エヌ・トリス（ヒドロキシメチル）・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド）緩衝液中に浸漬して保存し、 $100\mu\text{M}$ の過酸化水素、 50mg/dl のアスコルビン酸および 8mg/dl のアセトアミノフェンに対するセンサ出力を測定した（図10）。

【0140】その結果、尿素層を設けたセンサでは、少なくとも36日間は連続して過酸化水素を選択的に測定することが可能であったが、アセチルセルロース層を設けたセンサでは3日間しか測定することができず、4日以降はセンサ破損のため測定不可能となった。アセチルセルロース層を均一な厚さに製膜することが困難であるため、使用中にアセチルセルロース層の剥離が発生し、センサ自体が破損したものである。

【0141】（実施例7）本実施例は、図16の構成を有する測定器の一例を示すものである。

【0142】本実施例に係る測定器のバイオセンサ部については、実施例1と同様にして作製した。すなわち、 $10\text{mm}\times6\text{mm}$ の石英基板上に、白金からなる作用極（面積 7mm^2 ）と対極（面積 4mm^2 ）、銀／塩化銀からなる参照極（面積 1mm^2 ）を形成した後、白金電極部分に尿素層を選択的に形成した。

【0143】以上のようにして電極部を形成したバイオセンサを用い、図16に示す構成の測定器を作製した。電極部分とフレキシブル基板はワイヤーボンディングで結線し、フレキシブル基板と電気化学測定回路部はピンジャック型の電線を用いて接続した。

【0144】電気化学測定回路は、北斗電工社製のポテンシオスタットHOKUTODENKOPOTENTIOSTAT/GALVANOSTATH A150Gを使用した。データ処理装置は、日本電気（株）社製のパーソナルコンピュータPC-9821RaII23を使用した。データ報知部53は、日本電気（株）社製のディスプレイPC-KP531を使用した。電気化学測定回路とデータ処理装置とデータ報知部53とをピンジャック型の電線で接続した。

【0145】続いて、本実施例の測定器の動作について説明する。

【0146】使用者は、酵素電極を具備するバイオセンサを 150mM の塩化ナトリウムを含む $\text{pH}7$ の 1mM TES（エヌ・トリス（ヒドロキシメチル）・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド）緩衝液中に浸漬し、次い

で装置の電源を入れた。すると、データ報知部に「時刻を設定します。現在の時刻を入力して下さい。」と表示された。この表示に基づいて使用者がキーを操作して現在の時刻を入力すると、データ報知部に「現在の時刻が入力されました。」と表示された。正確に時刻が入力されないと、再度「時刻を設定します。現在の時刻を入力して下さい。」と表示されるようになっている。こうして、入力された現在の時刻はデータ処理部に保存される。

【0147】次に、データ報知部に「準備中です。しばらくお待ち下さい。」と表示された。酵素電極から送られてくる電流値が安定すると、データ報知部に「校正を行います。電極を校正液に浸漬して下さい。」と表示された。この表示に基づいて、使用者は、バイオセンサを 200mg/dl グルコースの校正液に浸漬して校正を行った。すると、データ報知部に「校正が正常に完了しました。洗浄後、緩衝液に戻して下さい。」と表示された。正常に校正されたか否かはデータ処理部が判断し、その結果がデータ報知部に表示されるようになっている。校正が正常に行われなかった場合は、「校正できません。電極を洗浄し、再度、校正液に浸漬して下さい。」もしくは「電極が壊れています。交換して下さい。」というメッセージが表示される。校正終了後、使用者は酵素電極を緩衝液に浸漬し、測定の準備を整えた。校正が終了してから10秒間以上、電極が緩衝液に戻されない場合には、警告音が発生するようになっている。

【0148】つづいて使用者は、データ報知部に表示された「測定開始」の項目を選択した。するとデータ報知部には、「測定を開始します。電極を尿に浸漬して下さい。」というメッセージが表示された。この表示に基づいて使用者は、電極を尿に浸漬して測定を開始した。測定を開始してから10秒後、データ報知部に「測定が正常に完了しました。尿糖値は $○○\text{mg/dl}$ です。」と表示された。正常に測定が行われたか否かはデータ処理部が判断し、その結果がデータ報知部に表示されるようになっている。校正が正常に行われなかった場合は、「測定できません。電極を洗浄し、再度、尿に浸漬して下さい。」もしくは「電極が壊れています。交換して下さい。」というメッセージがデータ報知部に表示される。

【0149】測定完了後、データ報知部に「電極を洗浄し、緩衝液に戻して下さい。」と表示された。測定終了後10秒間以上電極が緩衝液に戻されない場合には、警告音が発生するようになっている。その後、使用者はデータ報知部の「測定終了」の項目を選択し、測定を終了した。

【0150】本実施例の測定器は、測定すべき時刻を予め設定しておくこともできる。設定した時刻になると、報知音が発生するとともに、データ報知部に「測定を開始します。電極を尿に浸漬して下さい。」というメッセージが表示される。設定時刻は任意に設定でき、複数の

時刻を設定できるようになっている。

【0151】本実施例の測定器におけるデータ処理部への入力に際しては、入力が受け入れられた場合と、入力が受け入れられない場合に、報知音が発せられるようになっている。報知音ではなく報知光を発するようにしてもよい。また、酵素電極、電気化学測定回路、データ処理装置および電線間に異常電流が生じると、異常電流報知手段によって「異常電流が検出されました。」とデータ報知部に表示される。この表示によって、装置の破損を防ぐことができる。

【0152】さらに、バイオセンサ、電気化学測定回路、データ処理装置は、いずれもピンジャック型の電線で接続されているため、これらの間において脱着が容易であり、必要に応じて交換が可能である。

【0153】以上のように本実施例の測定器を用いれば、規則正しい時刻に測定を行うことができ、さらに操作ミスが発生することなく、誰にでも簡単に扱うことが可能になる。

【0154】（実施例 8）本実施例は、図 18 に示す構成を有する測定器の一例を示すものである。この測定器は、実施例 7 の測定器に対し、さらに、pH センサおよび温度センサを付加したものとなっている。

【0155】温度センサおよび pH センサとして、それぞれ熱電対方式の温度センサとイオン感応性電界効果型トランジスタ方式の pH センサを用いた。pH センサ、温度センサ、電気化学測定回路、データ処理装置、およびデータ報知部は、それぞれ電線により接続した。

【0156】以下、本実施例の測定器の動作について説明する。

【0157】使用者はまず酵素電極を 150mM の塩化ナトリウムを含む pH 7 の 1mM TES（エヌ・トリス（ハイドロキシル）・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド）緩衝液中に浸漬してから装置の電源を入れた。約 1 分後、酵素電極のベース電流値が安定化した。この状態で酵素電極を 200mg/dl グルコース標準液に浸漬し、酵素電極の校正を行った。このグルコース標準液は、pH 指示薬も含まれているため、同時に pH センサの校正も同時に行うことができる。なお、電極の交換時を除き、酵素電極が接続された状態で装置の電源は切られないようになっている。

【0158】つづいて使用者はデータ報知部に表示された「測定開始」の項目を選択した。すると「測定を開始します。電極を尿に浸漬して下さい。」というメッセージがデータ報知部に表示された。

【0159】この表示に基づいて使用者は、被験者として 2 人の糖尿病患者の尿糖を続けて一回づつ測定した。なお、測定の際にメモ登録手段を利用して、被験者の血圧と体温を同時に入力した。その結果、1 人目の患者が酵素電極を尿中に浸漬して 10 秒後に、データ報知部に「測定が正常に完了しました。尿糖値は 80mg/dl で

す。」と表示され、同時に音声で「測定が正常に完了しました。尿糖値は 80mg/dl です。」と表示された。続いて約 20 秒後、2 人目の患者が酵素電極を尿中に浸漬して 10 秒後に、データ報知部に「測定が正常に完了しました。尿糖値は 180mg/dl です。」と表示され、同時に音声で「測定が正常に完了しました。尿糖値は 180mg/dl です。」と表示された。この時に既存の臨床検査装置（日立自動分析装置 7050、グルコースデヒドロゲナーゼ法）との測定値の比較を行った結果、測定値はほぼ一致し、高い相関を示した。

【0160】このように本実施例の測定器を用いることにより、2 人の尿糖を連続測定することができた。また、視力の衰えた人でも確実に自分の尿糖値を知ることが可能であった。さらにメモ登録手段を利用して入力しておいた体温と血圧を呼び出し、尿糖値と比較することが可能になり、詳細な病態管理が可能になった。また、得られた測定値に対して温度補正と pH 補正を行ったため、既存の臨床検査装置に匹敵する高い測定精度の測定を行うことができた。

【0161】（実施例 9）本実施例は、図 19 に示す構成を有する測定器の一例を示すものである。この測定器は、実施例 8 の測定器に対し、さらに、通信処理部 58 を付加したものとなっている。

【0162】通信処理部 58 は、日本電気（株）社製のモデム・ターミナルアダプタ PC-IT65S1P を使用した。pH センサ、温度センサ、電気化学測定回路、データ処理装置、データ報知部、通信処理部の各部は、いずれも電線により接続した。

【0163】この装置を用いて、1 人の糖尿病患者の尿糖を 30 日間、毎日 2 回（朝食後、夕食後、それぞれ 2 時間後）連続して測定し、測定後のデータを電話回線を利用して逐一、病院に送信した。

【0164】その結果、患者は尿糖の測定時間を遵守し、病院は送られた尿糖値をもとにグラフ化して解析し、適宜患者の病態管理を行うことができた。

【0165】（実施例 10）本実施例は、図 20 に示す構成を有する測定器の一例を示すものである。この測定器は、実施例 9 の測定器に対し、さらに、印刷部 59 を付加したものとなっている。印刷部 59 としては、日本電気（株）社製のレーザープリンタ Multiwriter 2000X を使用した。データ処理装置と印刷部はプリンタケーブル PC-CA202 で接続した。以下、本実施例の測定器を用いて測定を行った結果について説明する。

【0166】この装置を用いて、100 人の糖尿病患者の尿糖を連続して測定した。校正は装置を立ち上げたときに一回のみ行った。同じ試料について既存の臨床検査装置を用いた測定も行い、本実施例の測定器および既存の臨床検査装置（日立自動分析装置 7050、グルコースデヒドロゲナーゼ法）の測定結果の比較を行った。その結果、相関係数は 0.96、回帰式は $Y = 1.09X + 8$

8 となった。本実施例の測定器によれば、臨床検査装置と同等の測定精度が得られることが明らかになった。また、本実施例の測定器を用いた場合の測定時間は、1 サンプル当たり 90 秒程度であり、迅速な測定が可能であった。さらに本実施例の測定器は、印刷部 59 を具備しているため、測定結果が速やかに印刷され、確認を行うことができた。患者は、測定値の印刷されたものを病院に持ち込み、医師からのアドバイスを受けることもできた。

【0167】（実施例 11）本実施例は、図 21 に示す構成を有する測定器の一例を示すものである。この測定器は、実施例 10 の測定器に対し、さらに、外部記憶部 55 を付加したものとなっている。外部記憶部として、日本電気(株)社製の 3.5 インチ光ディスクユニット PC-OD302R を使用した。外部記憶装置とデータ処理部とは、電線により接続した。以下、本実施例の測定器の動作について説明する。

【0168】使用者はまず酵素電極を 150mM の塩化ナトリウムを含む pH 7 の 1mM TES（エヌ・トリス（ハイドロキシル）・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド）緩衝液中に浸漬してから装置の電源を入れた。約 1 分後、酵素電極のベース電流値が安定化した。この状態で酵素電極を 200mg/dl グルコース標準液に浸漬し、酵素電極の較正を行った。

【0169】つづいて使用者は、データ報知部に表示された「測定人数の入力」の項目を選択し、「測定人数を入力して下さい。」と表示させた。この表示に基づいて使用者が測定する人数を入力すると、データ報知部に「○人の測定を行います。（はい、Y/いいえ、N）」と表示された。「はい、Y」が選択されると、「○人の測定が可能です。」と表示された。「いいえ、N」であれば、再度、「測定人数入力して下さい。」と表示され、「はい、Y」が選択されるまで上記手順が繰り返される。

【0170】次に使用者は、データ報知部に表示された「暗証番号」の項目を選択し、次いで「暗証番号の登録」を選択した。データ処理部は暗証番号入力ボタンが押されたことを認識して、データ報知部に「暗証番号を登録します。4桁の番号を入力して下さい。」と表示させる。この表示に基づいて使用者がキーを操作して 4桁の番号を入力すると、データ報知部に「同じ暗証番号を入力して下さい。」と表示された。使用者が再度同じ番号を入力すると、「暗証番号を受け付けました。」と表示された。暗証番号の登録は測定人分登録される。こうして、登録した暗証番号はデータ処理部内のメモリに保存される。

【0171】次に、データ報知部に「測定を開始します。暗証番号を入力してから、電極を尿に浸漬して下さい。」と表示された。この表示に基づいて使用者は、暗証番号を入力してから、電極を尿に浸漬して測定を開始

した。すると、データ報知部に「測定が正常に完了しました。尿糖値は○○mg/dl です。」と表示された。測定が正常に行われなかった場合には、「測定できません。電極を洗浄し、再度、尿に浸漬して下さい。」もしくは「電極が壊れています。交換して下さい。」と表示されるようになっている。また、正しい暗証番号が入力されないと、再度「測定を開始します。暗証番号を入力してから、電極を尿に浸漬して下さい。」と表示される。また、3回連続して暗証番号が一致しないと、前回までの測定データはすべて消去され、初期設定に戻るようになっている。

【0172】測定が正常に完了した後、データ報知部に「電極を洗浄し、緩衝液に戻して下さい。」と表示された。

【0173】次に使用者はデータ報知部の「メモ登録」を選択し、「メモを登録しますか。（はい、Y/いいえ、N）」と表示させた。「Y」を選択すると、「暗証番号を入力して下さい」と表示された。暗証番号を入力してから、メモ内容を入力すると、データ報知部に「メモを登録しますか。（はい、Y/いいえ、N）」と表示された。「Y」を入力し、メモを入力すると、再度「メモを登録しますか。（はい、Y/いいえ、N）」と表示された。使用者は「Y」を入力し、メモの登録を行った。これらの入力をやめるときには「N」を入力すればよい。また、登録したメモを呼び出したり、修正したり、消去するときには、「暗証番号を入力後、メモ番号を指定して下さい。」と表示される。この表示に基づいて使用者は暗証番号を入力すると、メモを呼び出したり、修正したり、消去することができる。暗証番号が正しく入力されない場合には「暗証番号が一致しません。再度暗証番号を入力して下さい。」と表示される。3回連続して暗証番号が一致しないと、前回までのメモ内容はすべて消去され、初期設定にもどる。

【0174】次に、本実施例の測定器を用いて測定を行った結果について説明する。本実施例の測定器を用いて、2人の糖尿病患者の尿糖を 1日2回、一週間、繰り返して測定した。較正は装置を立ち上げたときに一回のみ行った。同じ試料について既存の臨床検査装置（日立自動分析装置 7050、グルコースデヒドロゲナーゼ法）を用いた測定も行い、本実施例の測定器および既存の臨床検査装置の測定結果の比較を行った。その結果、相関係数は 0.955 (n=28) となった。本実施例の測定器によれば、臨床検査装置と同等の測定精度が得られることが明らかになった。また、メモ機能を利用して患者名を入力していたため、測定値のデータを取り違えることも無く、さらに、暗証番号で管理されているため、測定時のプライバシーを守ることにも可能であった。また、測定データを棒グラフで表示することもできた。さらに、データが記憶されている光ディスクは、携帯可能であるため、別のパソコンでデータの管理を行ったり、データの

解析を行うこともできた。

【0175】

【発明の効果】以上説明したように、本発明の酵素電極およびバイオセンサは、作用極として機能する電極の少なくとも一部を、尿素化合物を主成分とする電極保護層により被覆されている。このため、高濃度の尿素等の汚染物質を含有する測定試料中の特定成分を精度良く測定することができる。電極保護層により、測定試料中に含まれる尿素等の汚染物質の電極への透過が制限されるためである。また、上記電極保護層は、干渉物質であるアスコルビン酸やアセトアミノフェン等の透過を制限する機能を有するため、過酸化水素等の測定対象物の選択透過性を高めることができる。

【0176】このため、本発明の酵素電極およびバイオセンサは、尿素化合物によるセンサ出力の経時低下、および干渉物質によるセンサ出力の増加が抑制され、安定した出力が得られる。さらに、選択透過性の改善により従来よりも高感度のセンサが得られる。

【0177】また、本発明における電極保護層は、電極やγ-アミノプロピルトリエトキシシランからなる結合層との密着性が高いため、センサ自体の強度が向上する。このためセンサの使用寿命が延びる。

【0178】また、本発明の酵素電極を対極および参照極と一緒に絶縁基板上に組み込んだ構成のバイオセンサとすることにより、センサの小型化を図ることができる。これにより携帯性等に優れたセンサを得ることができる。

【0179】また、本発明のバイオセンサを、尿中のグルコース（尿糖）を測定する尿糖センサとして用いれば、従来のセンサでは不可能であった、尿糖値が正常範囲内にある人や、糖尿病予備軍に該当する人の尿糖を測定することが可能となり、糖尿病の予防に役立つデータ収集が可能となる。また、尿に大量に含まれる尿素、ビタミンC、アセトアミノフェンが測定値に与える影響を有効に排除できる。

【0180】また、本発明の測定器は、特定構造の作用極を具備するバイオセンサを有しているため、長期安定性に優れ、高感度の測定が可能となる。その上、操作方法が簡便であり、装置に不慣れな人でも簡単に扱うことができるという利点が得られる。

【0181】また、本発明の酵素電極の製造方法は、電解法を用いるため、尿素化合物層を個々の電極上に選択的に形成することができる。したがって、尿素化合物層形成とパターン化を同時に達成することができる。このため製造工程が簡単であり、大量生産も容易である。さらに、電極のサイズや形状によらず尿素化合物層を形成することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の酵素電極の断面図である。

【図2】本発明の酵素電極の断面図である。

【図3】本発明の酵素電極の断面図である。

【図4】本発明の酵素電極の断面図である。

【図5】本発明のバイオセンサの安定性を示す図である。

【図6】本発明のバイオセンサの選択透過性を示す図である。

【図7】本発明のバイオセンサの選択透過性を示す図である。

10 【図8】本発明のバイオセンサの選択透過性を示す図である。

【図9】本発明のバイオセンサの安定性を示す図である。

【図10】本発明のバイオセンサの安定性を示す図である。

【図11】従来の酵素電極の断面図である。

【図12】従来の酵素電極の断面図である。

【図13】本発明のバイオセンサの概略図である。

【図14】本発明のバイオセンサの構成の一例を示す図である。

20 【図15】本発明の測定器のセンサ部分の一例を示す図である。

【図16】本発明の測定器の構成の一例を示す図である。

【図17】本発明の測定器に含まれるデータ処理部の構成の一例を示す図である。

【図18】本発明の測定器の構成の一例を示す図である。

【図19】本発明の測定器の構成の一例を示す図である。

30 【図20】本発明の測定器の構成の一例を示す図である。

【図21】本発明の測定器の構成の一例を示す図である。

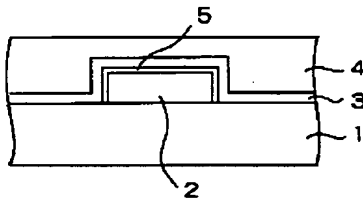
【符号の説明】

- 1 絶縁基板
- 2 電極
- 3 結合層
- 4 固定化酵素層
- 5 電極保護層
- 40 6 イオン交換樹脂層
- 7 制限透過層
- 8 作用極
- 9 対極
- 10 参照極
- 11 絶縁基板
- 12 電極
- 13 γ-アミノプロピルトリエトキシシラン膜
- 14 アセチルセルロース膜
- 15 パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂膜
- 50 16 固定化酵素層

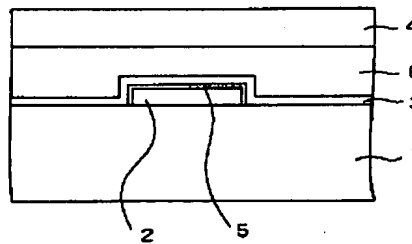
17 ポリアルキルシロキサン膜
 20 保護層
 22 プラスチックフィルム
 23 作用極
 23a 作用極感応部
 24 対照電極
 24a 対照電極感応部
 25 絶縁性保護膜
 29 固定化酵素膜
 29a ナフィオン膜
 29b 酵素層
 29c ポリウレタン層
 50 バイオセンサ
 51 電気化学測定回路部
 52 データ処理部
 53 データ報知部
 54 配線

55 外部記憶部
 56 温度センサ
 57 pHセンサ
 58 通信処理部
 60 計時手段
 61 時刻設定手段
 62 時刻報知手段
 63 操作説明手段
 64 測定値記憶手段
 10 65 暗証番号登録手段
 66 メモ登録手段
 67 動作報知手段
 68 較正時期報知手段
 69 電極交換時期報知手段
 70 異常電流値報知手段
 71 電極較正手段

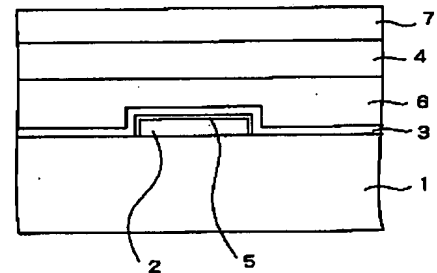
【図1】



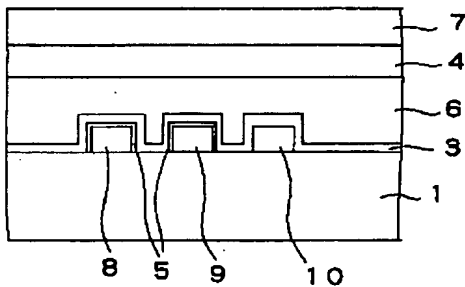
【図2】



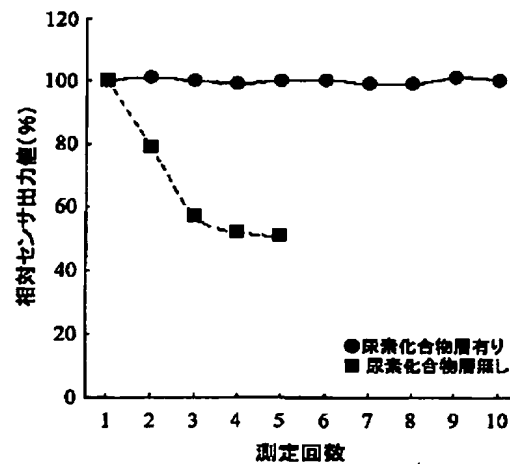
【図3】



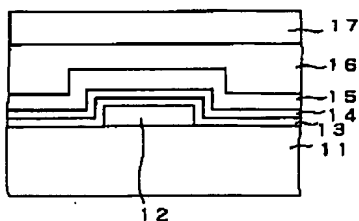
【図4】



【図5】



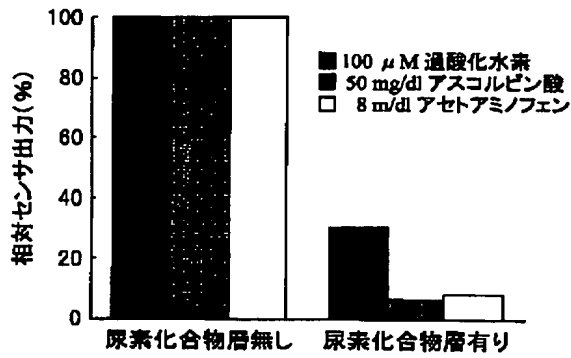
【図11】



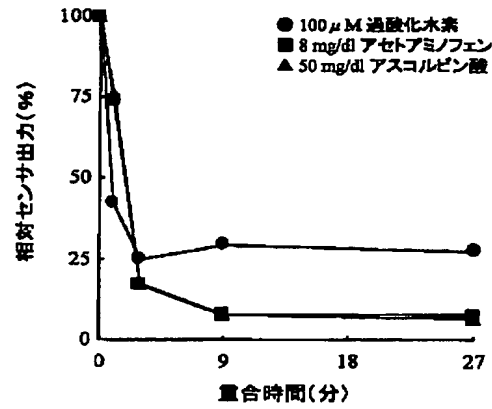
【図16】



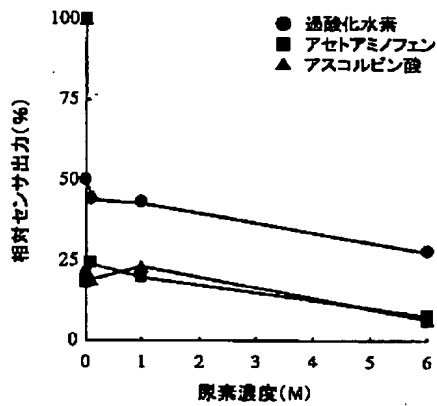
【図 6】



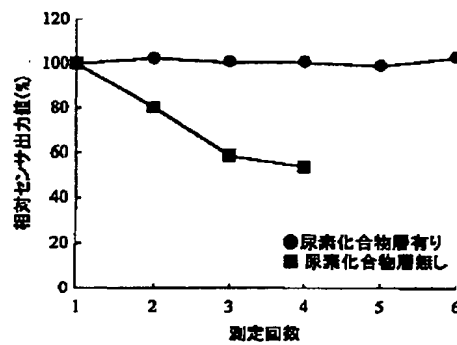
【図 7】



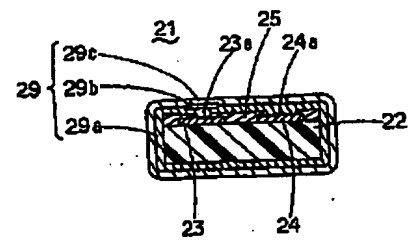
【図 8】



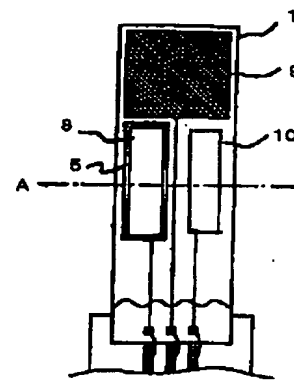
【図 9】



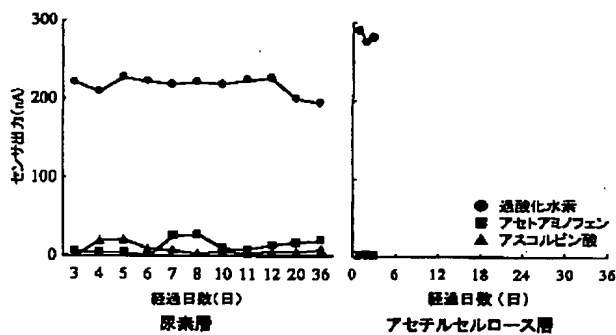
【図 12】



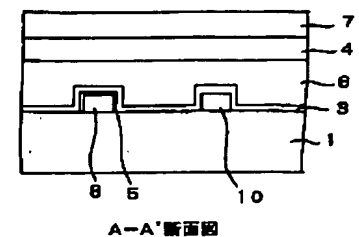
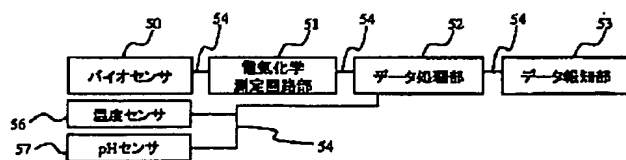
【図 13】



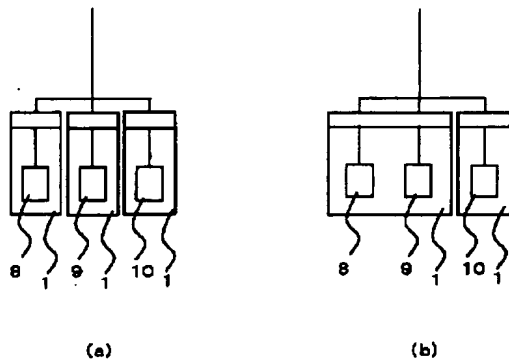
【図 10】



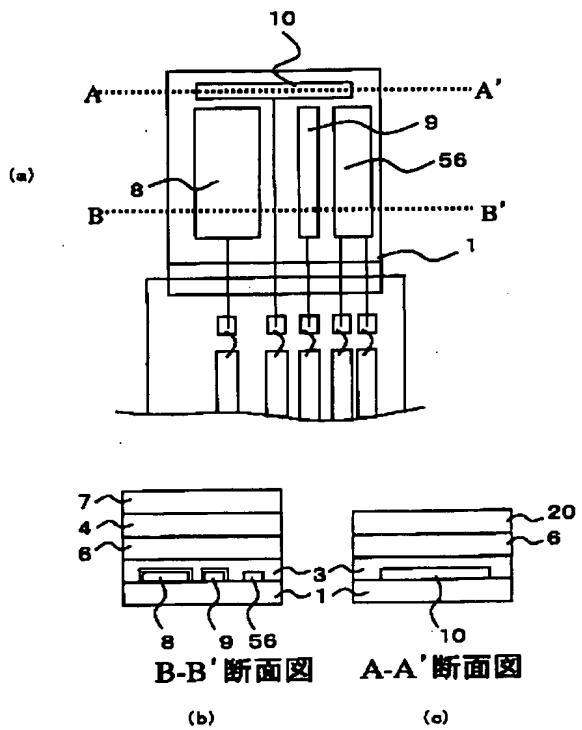
【図 18】



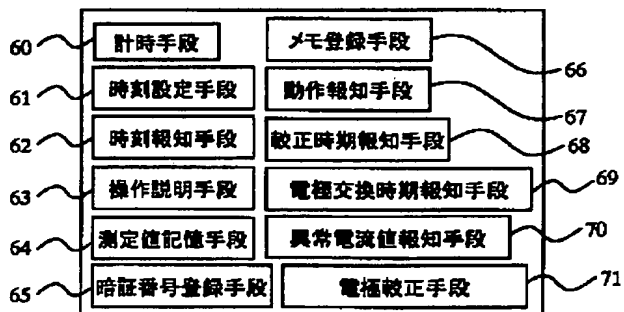
【図 14】



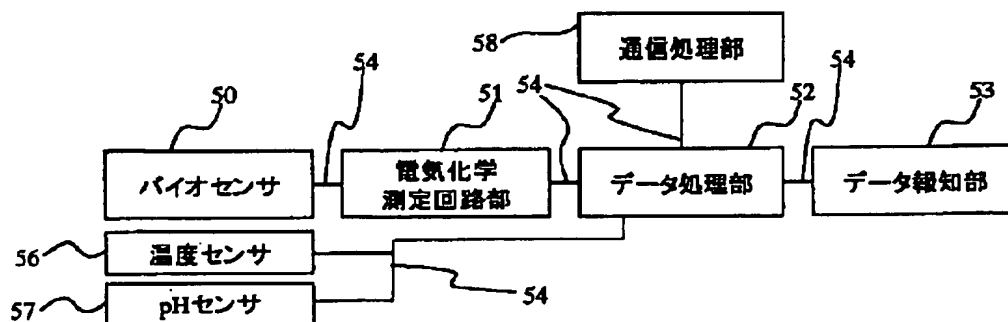
【図 15】



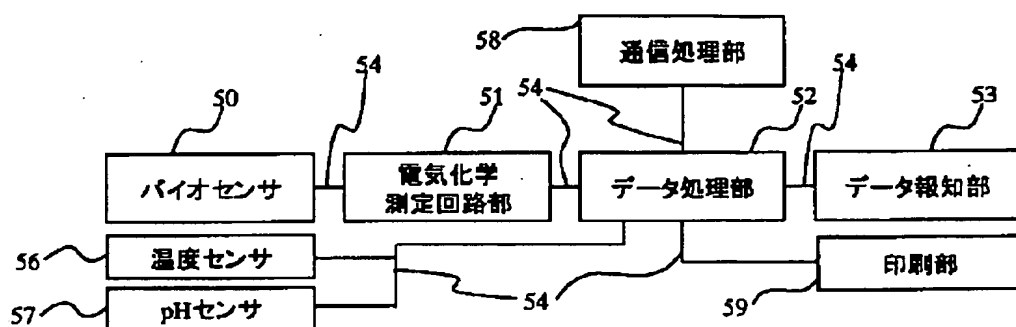
【図 17】



【図 19】



【図 20】



【図 21】

